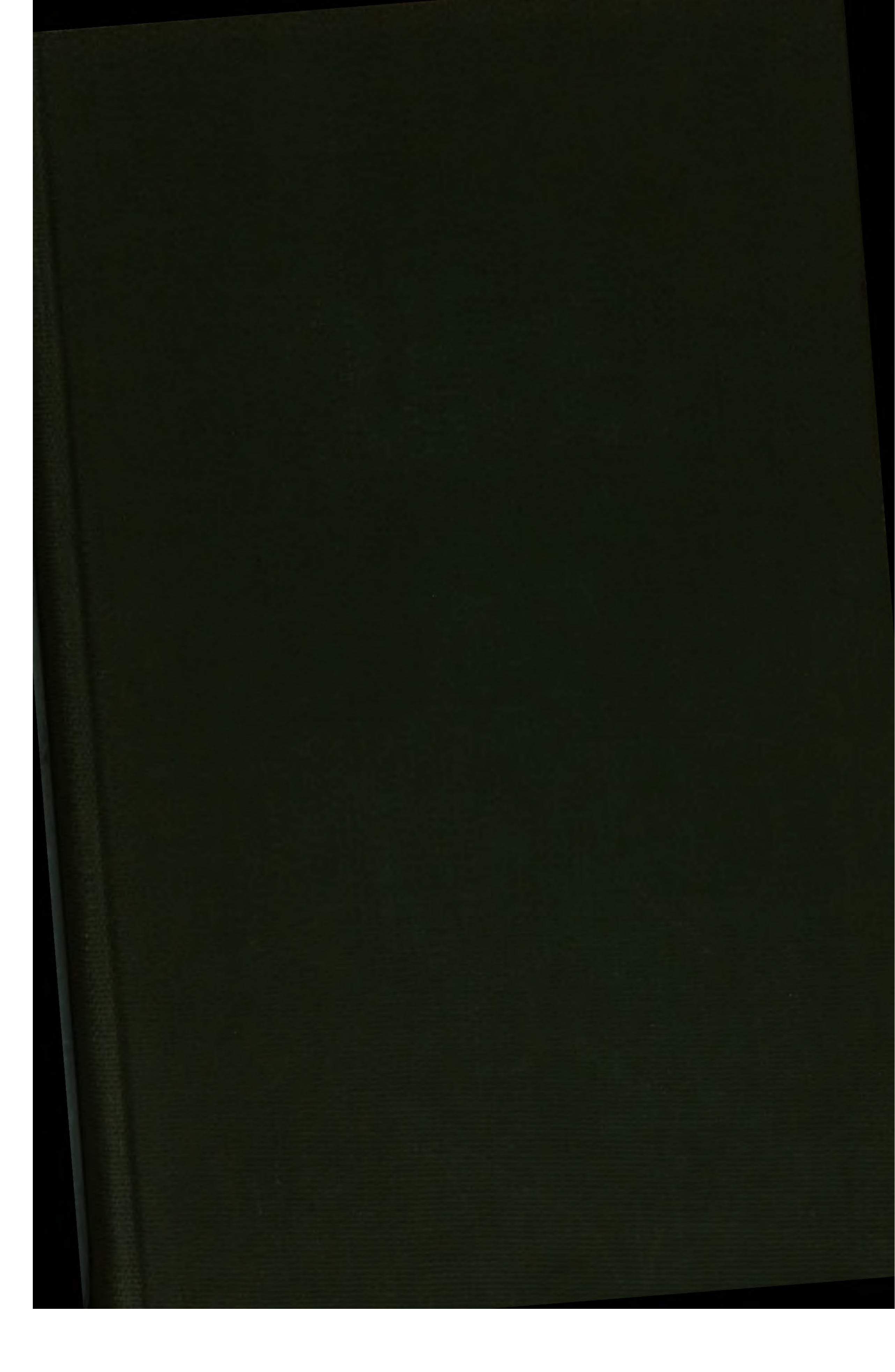
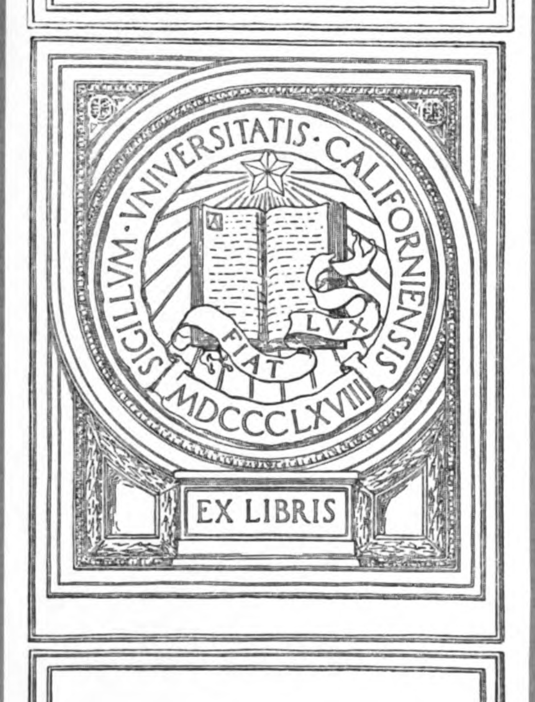
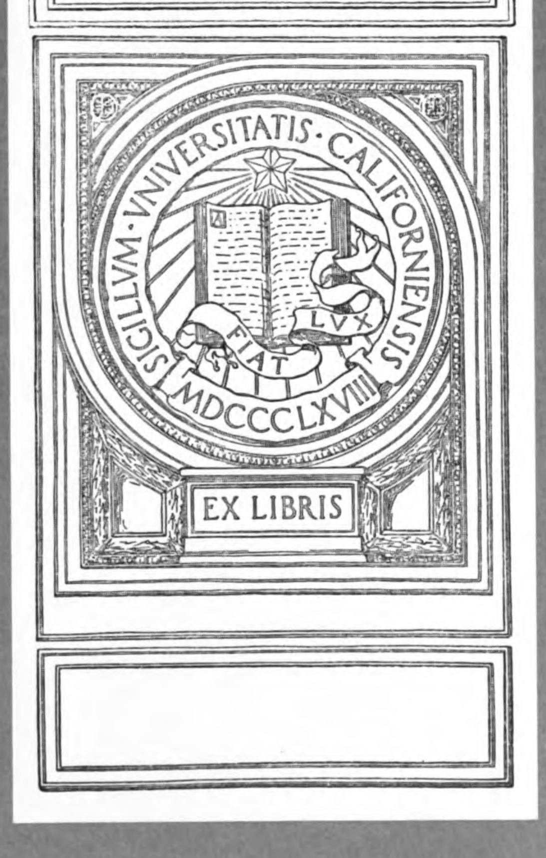
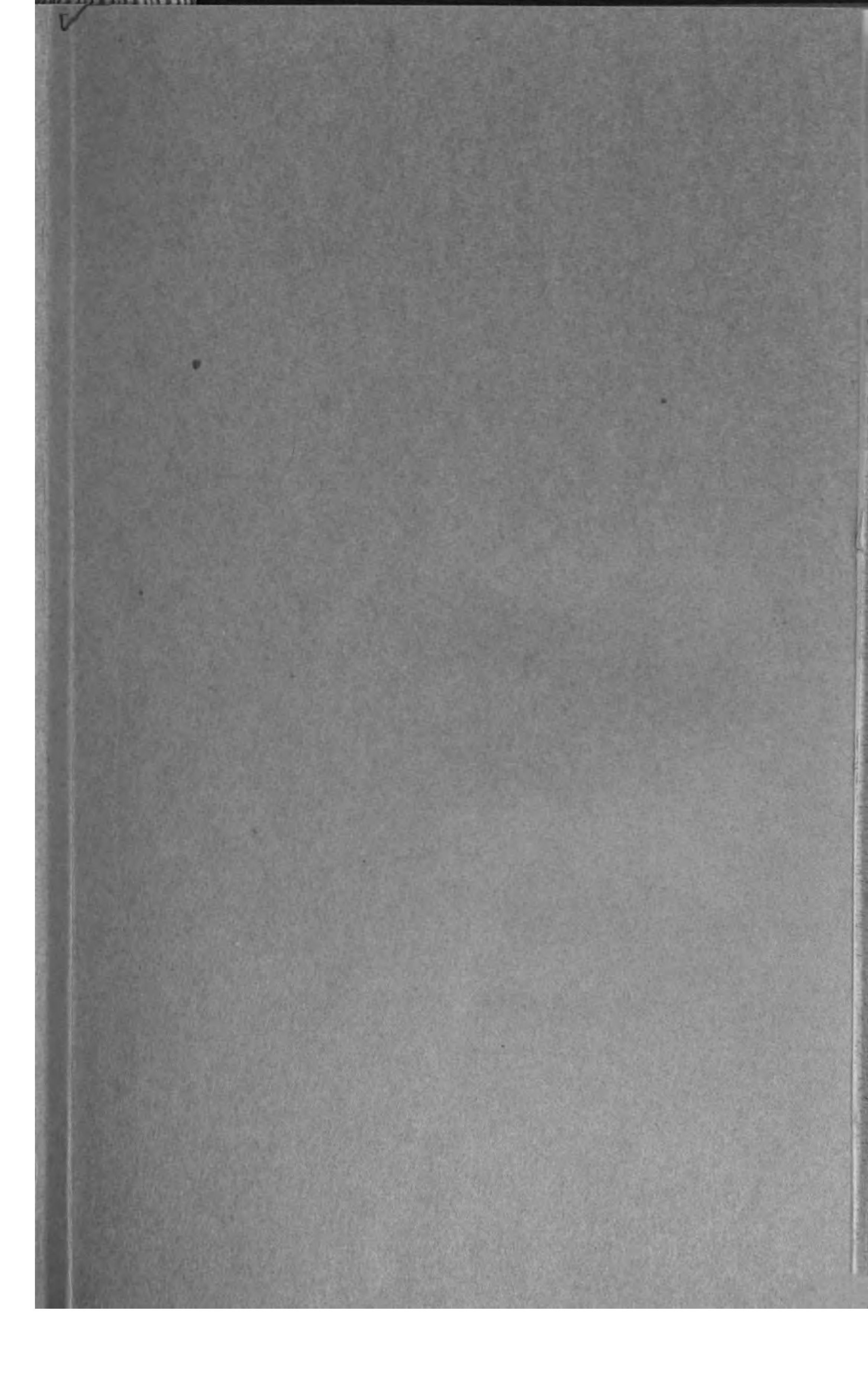
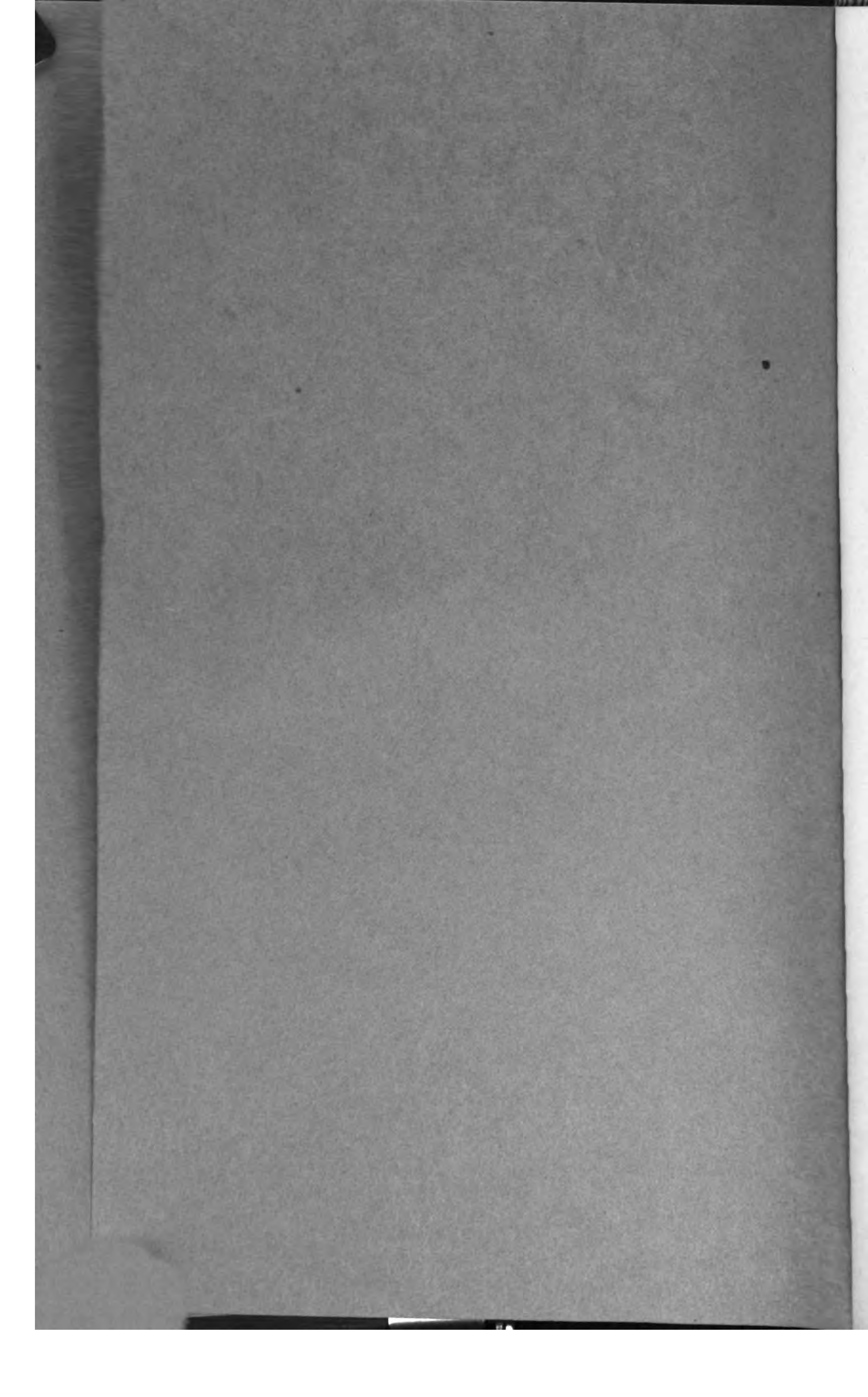


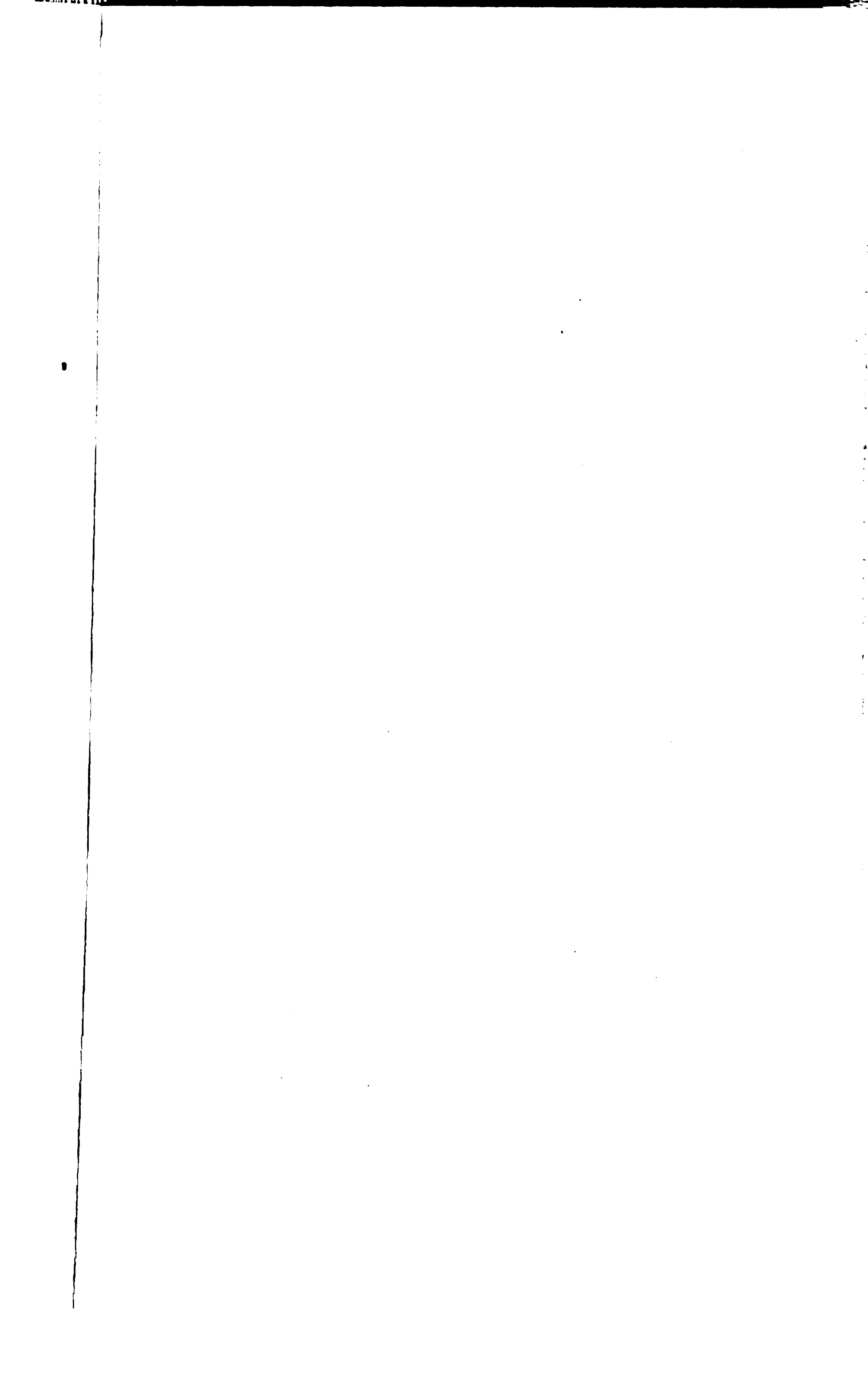

SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

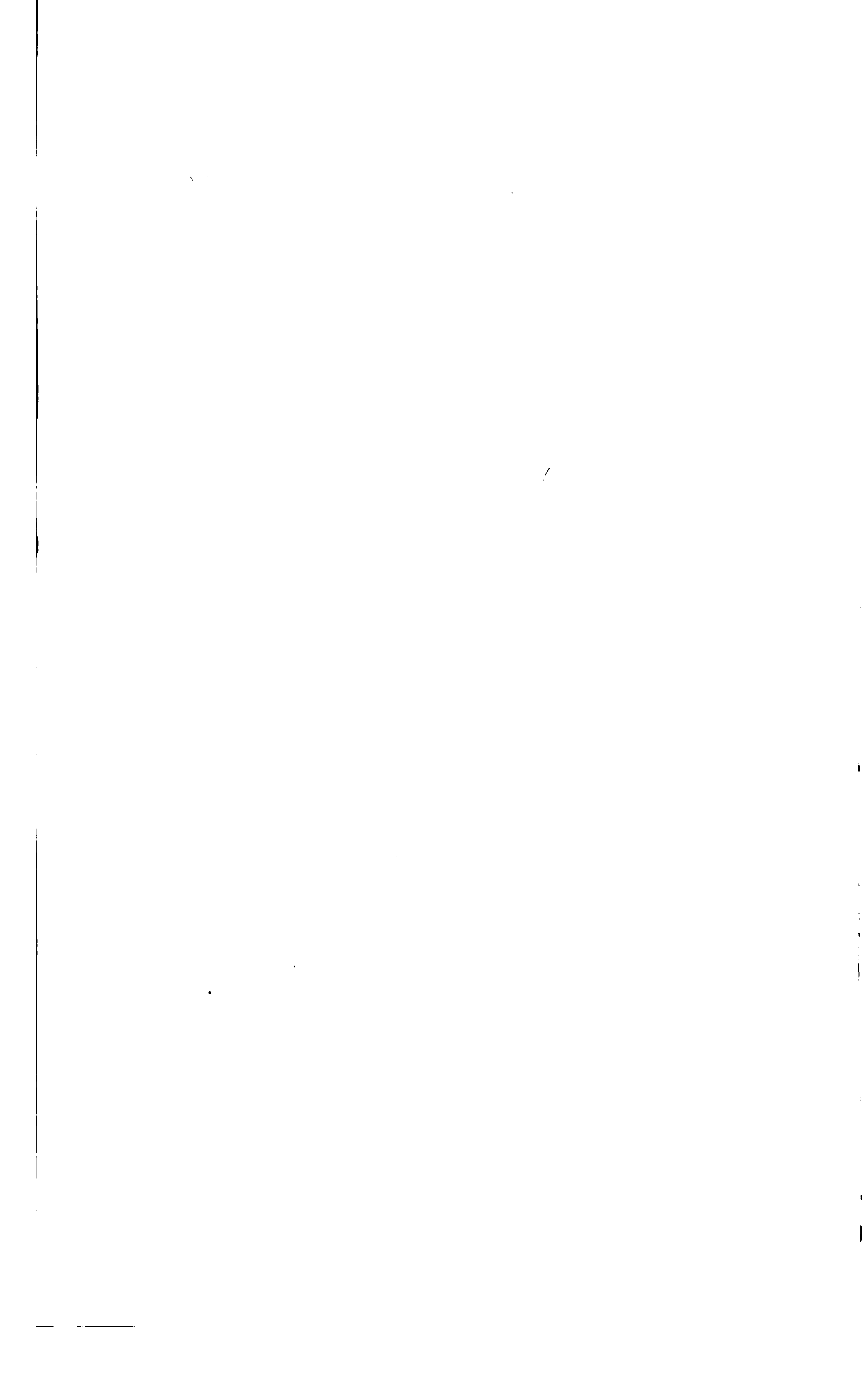



MEDICAL SCHOOL
LIBRARY
SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS









Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Vierunddreißigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1911.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Die Arbeit der Nieren und die „spezifisch-dynamische Wirkung" der Nährstoffe.

Von

Franz Tangl.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

I.

Definition der Organarbeit und das Prinzip ihrer Messung.

Von der Arbeit eines Organes oder von Arbeitsleistung des Organismus zu sprechen ist nur dann bedingungslos zulässig, wenn man alle Lebenserscheinungen als Energieumwandlungen betrachtet. Alle Erfahrungstatsachen der Physiologie berechtigen zu dieser Auffassung. Steht man auf diesem energetischen Standpunkte und sieht in allen biologischen Leistungen eines Organes die gekoppelte Folge einer Reihe von Energieumwandlungen, so kann man in der zweckmäßigsten Weise die Summe dieser Energieumwandlungen als die Arbeit des Organes bezeichnen. Da nun im tierischen Organismus jede in Erscheinung tretende Energieart in ultima analysi durch Umwandlung aus chemischer Energie entsteht, kann die Menge der in andere Energiearten umgewandelten chemischen Energie als Maß der geleisteten Arbeit betrachtet werden.

Diese Auffassung ist um so berechtigter, da jede Arbeitsleistung in der anorganischen Welt ebenso wie in der organischen eigentlich in der Umwandlung einer Energieart in eine oder mehrere andere besteht.

Ich hielt es bei der Unsicherheit der Terminologie für geboten, genau zu bezeichnen was ich unter „Arbeit", speziell unter der Arbeit eines Organes verstehe. Mit „Nierenarbeit"

bezeichne ich also — in Übereinstimmung mit der Mehrzahl der Physiologen — jene Menge chemischer Energie, die durch die Lebensäußerung der Nieren in andere Energiearten — wie osmotische Energie, Oberflächenenergie, elektrische Energie, Wärme usw. — verwandelt wird. Wichtig für die Messung der Nierenarbeit — und auch der übrigen Organarbeiten — ist die Tatsache, daß alle Energiearten, die während der Tätigkeit eines Organes aus chemischer Energie entstehen, noch im Organismus selbst schließlich in Wärme umgewandelt werden und als solche das Organ verlassen — ausgenommen die Fälle, wo das Organ nach außen mechanische Arbeit leistet.

Will man die Größe der Nierenarbeit messen, so muß diese Messung in der Bestimmung der Menge der durch die Tätigkeit der Nieren umgewandelten chemischen Energie bestehen. Das könnte man nach dem Gesagten durch die Bestimmung der in den Nieren gebildeten Wärmemenge erreichen. Dazu sind aber unsere jetzigen technischen Hilfsmittel und Methoden noch nicht genügend ausgebildet. Wir müssen an Stelle dieser direkten Calorimetrie die indirekte anwenden, bei der man aus der Menge des verbrauchten O_2 und der produzierten CO_2 die verbrauchte chemische Energie berechnet, was auch möglich ist, sobald die Stoffe bekannt sind, die am O_2-Verbrauch und der CO_2-Produktion beteiligt waren. Das braucht nicht mehr weiter erörtert zu werden. Dasselbe gilt natürlich auch für Messung der übrigen Organarbeiten.

Um die Größe des O_2-Verbrauches und der CO_2-Produktion eines Organes zu erfahren, hat man bisher hauptsächlich zwei Wege eingeschlagen.

Die eine Methode, die schon Claude Bernard und C. Ludwig anwendeten und die neuerdings besonders von Barcroft und seinen Mitarbeitern[1]) meisterhaft ausgebildet wurde, beruht auf der Bestimmung des O_2- und CO_2-Gehaltes des zu- und abströmenden Blutes und der in einem bestimmten Zeitabschnitt durchgeflossenen Blutmenge. Aus diesen Daten läßt sich dann ohne weiteres der Gaswechsel des betreffenden Organes berechnen.

Der zweite Weg ist die Ausschaltung des Organes aus dem Stoffwechsel des Organismus. Der im Gaswechsel des

[1]) J. Barcroft und T. G. Brodie, The gaseous metabolism of the kidney., Journ. of physiol. 32, 18, 1905 und 33, 52, 1905 bis 1906.

ganzen Organismus eintretende Ausfall wird als Maß des Gaswechsels des ausgeschalteten Organes betrachtet. Auf diesem Wege versuchte Slosse[1]) die Darmarbeit zu messen; mit seiner etwas modifizierten Methode habe ich auch dieselbe Arbeitsgröße zu bestimmen versucht[2]).

Zur Bestimmung der Nierenarbeit habe ich bei meinen Versuchen ebenfalls die Ausschaltungsmethode benützt. Gegen diese Methode lassen sich allerdings manche nicht unwesentliche Einwände erheben. Vor allem kann die Ausschaltung, ganz gleich ob sie durch Exstirpation des betreffenden Organes oder durch die Unterbindung seiner Blutgefäße geschieht, überhaupt nur dann über die Größe des Gaswechsels des ausgeschalteten Organes orientieren, wenn durch den Eingriff selbst nicht solche schweren Zirkulations- oder Innervationsstörungen erzeugt werden, daß die Funktion der übrigen Organe wesentlich gestört wird. Anderseits kann die Ausschaltung eines Organes nur dann einen erkennbaren Ausfall im Gaswechsel des Organismus ergeben, wenn sein Anteil größer ist als die unvermeidlichen Fehler der Methodik. Diesbezüglich muß vor allem hervorgehoben werden, daß selbstverständlich der Ausfall im Gaswechsel, der durch den Vergleich des Gaswechsels vor und nach der Ausschaltung des betreffenden Organes erkennbar ist, nur dann dem Gaswechsel des ausgeschalteten Organes entsprechen kann, wenn der Gaswechsel vor und nach der Ausschaltung unter sonst ganz gleichen Bedingungen verläuft. Es müssen also solche Versuchsbedingungen gewählt werden, daß der Stoffwechsel der übrigen Organe vor und nach der Ausschaltung möglichst gleich bleibt.

Nun ist aber zu bedenken, daß schon durch die Ausschaltung eines Organes an und für sich die Funktion und dementsprechend der Energieumsatz der übrigen verändert werden, und zwar infolge der chemischen Korrelation zwischen den einzelnen Organen. Besteht z. B. zwischen dem ausgeschalteten Organ und den übrigen Teilen des Organismus eine solche chemische Korrelation, daß Stoffwechselprodukte (Hormone) jenes Organes den Energieumsatz der übrigen Organe steigern, so wird

---

[1]) Slosse, Die Atemgröße d. Darmes usw. Dubois' Arch. f. Physiol. 1890, Suppl., 164.

[2]) F. Tangl, Über respir. Gasw. nach Unterbind. der drei Darmarten. Ibid. 1894, 283.

die Ausschaltung desselben auch einen Ausfall im Energieumsatz und Gaswechsel der übrigen Organe zur Folge haben, dieser wird also größer sein, als der eigene Gaswechsel des ausgeschalteten Organes. Die aus dem Ausfall berechnete Organarbeit wird also zu groß sein, um so größer, je größer die korrelative Wirkung des ausgeschalteten Organes war. Diese Überlegung führt noch zu einer weiteren Folgerung. Hat nämlich ein Organ eine solche korrelative Wirkung, so kann die Ausschaltungsmethode und die neuerdings von den obengenannten englischen Forschern geübte Blutgasmethode, wie ich sie kurz bezeichnen will, unmöglich die gleichen Werte für die Organerbeit ergeben, da die letztere tatsächlich nur den Gaswechsel des betreffenden Organes ergibt, also die reine Organarbeit berechnen läßt, die Ausschaltungsmethode aber die durch die korrelative Wirkung vergrößerte Organarbeit. Nur, wenn das ausgeschaltete Organ auf den Umsatz der übrigen Organe keine korrelative Wirkung ausübte, können die zwei Methoden zu identischen Arbeitsgrößen führen.

Es frägt sich jetzt nur, welche dieser zwei Arbeitsgrößen über die Größe der biologischen Leistung des untersuchten Organes besser orientiert. Der mittels der Blutgasmethode erhaltene Wert gibt unstreitig richtiger die im Organe selbst geleistete Arbeit an, aber nur dann, wenn bei den vorbereitenden Operationen die Korrelation mit den übrigen Organen nicht gestört wird, wodurch dann die Arbeit des untersuchten Organes selbst eine Veränderung erleiden kann. So ist z. B. denkbar, daß die Eventeration, wie sie Barcroft und Brodie bei ihren Versuchen vornehmen, die Nierenarbeit beeinflußt. Es kommt also sicherlich den Arbeitsgrößen, die mittels der mit allen Kautelen ausgeführten Ausschaltungsversuchen gewonnen werden mindestens dieselbe biologische Bedeutung zu, wie denjenigen, die mit der Blutgasmethode an isolierten Organen erhalten werden. Die Kombination beider Methoden ermöglicht aber eine weitere Analyse der energetischen Leistungen der einzelnen Organe.

Diese Überlegungen veranlaßten mich im Vereine mit meinen Mitarbeitern, die Ermittelung der Arbeit der einzelnen Organe oder Organgruppen mit der Ausschaltungsmethode systematisch in Angriff zu nehmen und zwar unter solchen Versuchsbedingungen, daß wir möglichst zuverlässige Daten erhalten.

Wir mußten vor allem dafür Sorge tragen, daß alle Faktoren, die den Gaswechsel des Organismus beeinflussen, vor und nach der Ausschaltung des Organes — in meinen Versuchen der Nieren — in gleichem Maße wirksam seien. Bekanntlich hat den bedeutendsten Einfluß auf die Größe des gesamten Gaswechsels die quergestreifte Muskulatur, deren Funktionszustand in erster Reihe die Größe des Gaswechsels bestimmt.

Der unter dem Einflusse verschiedener Reflexe oder durch willkürliche Innervation wechselnde Tonus und die Contractionen verändern den Gaswechsel in unberechenbarer Weise, was natürlich in solchen Versuchen, wie den unsrigen, unkontrollierbare Fehler verursachen und den Vergleich der Zustände vor und nach der Ausschaltung eines Organes illusorisch machen würde. Dieser Fehler würde um so schwerer in Geltung treten, als nach der Operation (Exstirpation des Organes oder Unterbindung seiner Gefäße) durch die Schmerzen und das Unbehagen, die sie verursacht, jedenfalls die willkürliche Innervation der Muskulatur nach der Ausschaltung eine ganz andere ist wie vor derselben. Diesen Fehler kann man aber leicht dadurch ausschließen, daß man den Tonus der gesamten quergestreiften Muskulatur mittels Vergiftung durch Curare auf ein unveränderliches Minimum herabsetzt. Ist die Curaredosis nicht zu groß, so werden nur die motorischen Nervenendigungen der quergestreiften Muskulatur gelähmt, aber der Stoffwechsel der übrigen Organe gar nicht verändert. Das haben die Untersuchungen von Zuntz[1]) und die von O. Frank und F. Voit[2]) zweifellos erwiesen. Werden die mit Curare vergifteten und künstlich ventilierten Tiere vor Wärmeverlust geschützt in gleichmäßiger Temperatur gehalten, so ist ihr Gaswechsel stundenlang ganz konstant, sie eignen sich also ganz vorzüglich zu Ausschaltungsversuchen. Bestimmt man bei solchen curarisierten, bei gleicher Körpertemperatur gehaltenen Tieren den respiratorischen Gaswechsel vor und nach der Ausschaltung eines Organes, so kann die Veränderung im Gaswechsel mit vollem Rechte ausschließlich als Folge der Ausschaltung betrachtet

---

[1]) N. Zuntz, Über d. Benutzung curar. Tiere z. Stoffwechseluntera. Dubois' Arch. 1884, 380.

[2]) O. Frank und F. Voit, Der Ablauf d. Zersetz. im tierischen Organ bei Ausschalt. d. Muskeln d. Curare. Zeitschr. f. Biol. 42, 309, 1901;

werden. Von nicht geringer Bedeutung ist in dieser Hinsicht der Umstand, daß die spontane Atmung bei diesen Tieren durch künstliche Ventilation ersetzt ist, wodurch die Lüftung der Lungen vor und nach der Ausschaltung ganz gleich gehalten werden kann, was die störenden Folgen der veränderten Atemmechanik im respiratorischen Gaswechsel ausschließt.

Wir führen dementsprechend alle unsere Ausschaltungsversuche an curarisierten Tieren aus, die zur Erhaltung ihrer normalen Körpertemperatur vor und nach der Ausschaltung des fraglichen Organes in einem auf die entsprechende Temperatur geheizten Thermostaten liegen. Die größeren Hunde (über 20 kg), die im Thermostaten nicht mehr untergebracht werden können, liegen, mit Decken zugedeckt, auf einem elektrisch geheizten Tische. Wie wir für die Konstanz der Körpertemperatur auf diese Weise sorgten, so haben wir auch für die gleichmäßige und ausreichende künstliche Ventilation der Lungen der curarisierten Tiere gesorgt, die außerdem auch noch so ausgeführt werden mußte, daß sie eine genaue quantitative Bestimmung des O_2-Verbrauches und der CO_2-Ausgabe ermöglicht. Ich habe vor einiger Zeit[1]) eine Vorrichtung beschrieben, die diesen Anforderungen entsprach und die Anwendung des Zuntz-Geppertschen Verfahrens zur Bestimmung des Gaswechsels ermöglichte, was deshalb wünschenswert ist, weil dieses Verfahren doch die genaueste Messung des respiratorischen Gaswechsels in kürzeren Versuchen zuläßt. Trotz der guten Dienste die mir mein Respirationshahn leistete, verwende ich ihn kaum mehr, seitdem ich die Hans Horst Meyersche Pumpe, von Univ.-Mechaniker Rinck in Marburg verfertigt, für künstliche Respiration benützte, die sich ganz ausgezeichnet für diesen Zweck eignet, 1. weil sie eine scharfe Trennung der In- und Exspirationsluft ermöglicht, so wie es das Zuntz-Geppertsche Verfahren erfordert, 2. eine genaue Regulierung des Atemvolums zuläßt und 3. eine ausgezeichnete Ventilation der Lungen dadurch sichert, daß die Pumpe nicht nur die frische Luft in die Lungen preßt sondern die verbrauchte aus ihnen aspiriert.

So kann man mit der H. H. Meyerschen Pumpe und mit dem Zuntz-Geppertschen Verfahren den respiratorischen

[1]) F. Tangl, Arch. f. d. ges. Physiol. 98, 588, 1903.

Gaswechsel der künstlich ventilierten Tiere sehr genau bestimmen und kleine, vorübergehende Veränderungen desselben feststellen.

II.

Versuchsanordnung.

Die nach den angegebenen Prinzipien eingerichteten Ausschaltungsversuche führen wir in folgender Weise aus: Am aufgebundenen Tiere — wir verwendeten bisher nur Hunde — wird schnell die Tracheotomie ausgeführt und in die Trachea eine Y-förmige Glaskanüle luftdicht befestigt, die zur Verbindung mit der Meyerschen Pumpe dient, dann eine Carotis und eine Vena jugularis frei präpariert und mit je einer Kanüle versehen. Die Carotiskanüle führt zu einem Hürthleschen Manometer, mit dem wir während der ganzen Versuchsreihe den Blutdruck und die Herztätigkeit kontrollieren. Die Jugulariskanüle wird zur Injektion der $1^{0}/_{0}$igen, mit physiologischer Kochsalzlösung bereiteten Curarelösung benutzt, die wir aus einer eingeteilten Spritze je nach dem Bedarfe einspritzen. (Es muß nämlich während der meist lange dauernden Versuchsreihe genau darauf geachtet werden, daß sobald die ab und zu erscheinenden fibrillären Zuckungen das Nachlassen der Curarewirkung anzeigen, die Curareinjektion wiederholt werde, was, wenn die Versuche stundenlang [6 bis 10 Stunden] dauern, öfter geschehen muß.) Dann wird Curare langsam injiziert, bis die spontanen Atembewegungen aufhören, worauf die zwei freien Äste der Trachealkanüle mittels Gummischläuche mit der Pumpe verbunden werden, die dann einerseits durch eine besondere Leitung frische Straßenluft in die Lungen preßt, anderseits die aus den Lungen aspirierte Luft in die Zuntzsche Gasuhr pumpt. (Es ist vielleicht nicht überflüssig zu bemerken, daß die Dichtigkeit der Pumpe und der Schlauchverbindungen zeitweilig sorgfältig geprüft wird.) Für jedes Tier wird vor dem Versuch die Hubhöhe und Tourenzahl der Pumpe so eingestellt, daß die Ventilation (Atemvolumen) die entsprechende Größe hat.

Um das curarisierte Tier vor Wärmeverlust zu schützen, wird es sofort in einen besonders für diese Versuche gebauten, auf die nötige Temperatur geheizten Thermostaten gelegt. Der

Thermostat hat einen aus mehreren Teilen bestehenden abnehmbaren Glasdeckel, und an allen Seitenwänden verschließbare Öffnungen, durch die die verschiedenen Gummischläuche — zur Pumpe, zum Manometer — geführt sind, so daß das Tier während des ganzen Versuches im geschlossenen Thermostaten liegen kann, anderseits durch die verschiedenen Öffnungen jedem eventuell notwendigen Eingriffe leicht zugänglich ist, ohne den Thermostat ganz öffnen zu müssen. Die Heizung des Thermostaten wird so reguliert, daß die Temperatur des Tieres möglichst auf normaler Höhe und vor allem möglichst konstant erhalten werde, was mittels eines in das Rectum gesteckten Thermometers ständig kontrolliert wird. Größere Hunde (über 20 kg), die im Thermostaten nicht mehr untergebracht werden können, legen wir auf einen elektrisch heizbaren Tisch und decken sie mit wollener Decke zu. Die Rectumtemperatur wird bei diesen Tieren auch stets beobachtet und dementsprechend die Heizung des Tisches reguliert.

Sobald die Temperatur des im Thermostaten liegenden Tieres die normale Höhe erreicht hat (meist kühlen sie bei der vorgehenden Tracheotomie usw. etwas ab), was nach 20 bis 30 Minuten erfolgt, beginnen die Respirationsversuche, d. h. die Messung des respiratorischen Gaswechsels, die mit der beim Zuntzschen Verfahren üblichen Probenahme der Exspirationsluft unter gleichzeitiger Ablesung der Gasuhr beginnt. Bemerkt muß noch werden, daß wir mit dem Beginn des Respirationsversuches auch stets 3 bis 5 Minuten nach einer eventuell notwendig gewordenen Curareinjektion warteten. Wir bemerkten nämlich, daß je nach dem Präparate besonders die erste Curareinjektion den Blutdruck vorübergehend herabsetzte, die späteren Injektionen meist nicht. Die Dauer der Probenahme — d. i. je eines Respirationsversuches — wird mit einer Rennuhr auf Sekunden genau bestimmt. Sie beträgt bei unseren Versuchen 8 bis 30 Minuten. Solche Respirationsversuche werden in Intervallen von einigen Minuten nacheinander 3 bis 4 ausgeführt, um zuverlässige Werte über die Größe des respiratorischen Gaswechsels vor der Ausschaltung eines Organes zu erhalten. Das sind die Grundversuche, deren Mittelwert die Grundzahl ergibt, mit der der Gaswechsel nach der Ausschaltung verglichen wird.

Nach Beendigung der Grundversuche wird die Ausschaltung des fraglichen Organes rasch vorgenommen. Das Tier bleibt während der Operation im Thermostat liegen. Die Ausschaltung machen wir entweder durch Exstirpation des Organes oder durch Unterbindung seiner Blutgefäße, worauf der Thermostat wieder zugedeckt wird. Nach kurzer Zeit werden dann so wie bei den Grundversuchen in kurzen Intervallen wieder Respirationsversuche ausgeführt. Natürlich wird bei diesen ebenfalls sorgfältig darauf geachtet, daß vollständige Curarewirkung besteht.

Bei jedem Respirationsversuche werden stets 2 Proben der Atemluft analysiert.

Der Ausfall im Gaswechsel nach der Ausschaltung des Organes dient dann als Grundlage zur Berechnung der Arbeit des ausgeschalteten Organes, ebenso wie der Gaswechsel des Organismus zur Berechnung des gesamten Energieumsatzes — also der ganzen Arbeitsleistung des Organismus — dienen kann. Von den Daten des Gaswechsels können sowohl die der CO_2-Produktion als auch die des O_2-Verbrauches zu dieser Berechnung herangezogen werden. Nach den von Zuntz und seiner Schule festgestellten Tatsachen gibt der O_2-Verbrauch ein zuverlässigeres Maß für die Menge der umgewandelten (verbrauchten) chemischen Energie als die CO_2-Produktion, weil der spezifische energetische Wert des verbrauchten Sauerstoffs — d. h. die 1 ccm verbrauchten O_2 entsprechende Menge chemischer Energie — je nach der chemischen Beschaffenheit der oxydierten Substanz viel weniger schwankt als der der produzierten CO_2. Zuntz[1]) hat auch genau angegeben, wie sich aus dem O_2-Verbrauch mit Hilfe des respiratorischen Quotienten der Energieumsatz berechnen läßt.

Auch wir haben zur Berechnung des Energieumsatzes diese Grundlage gewählt.

III.

Größe der Nierenarbeit.

Die Arbeit der Nieren habe ich in der Weise gemessen, daß ich bei curarisierten Hunden in der oben angegebenen Weise den respiratorischen Gaswechsel vor und nach der Aus-

[1]) N. Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. 68, 1897, und Zuntz und Loewy, Lehrb. d. Physiol. 1909, 660.

schaltung der Nieren bestimmte. Die Ausschaltung der Nieren erfolgte auf zweierlei Art: entweder sie wurden auf dem Wege einer Laparotomie exstirpiert, oder es wurden alle Nierengefäße unterbunden. Der Erfolg ist der gleiche. Beide Operationen können sehr schnell — in einigen Minuten — ausgeführt werden, so daß das Tier während der Operation kaum abkühlt. In der Mehrzahl der Versuche wurde die Unterbindung der Gefäße angewendet.

Im ganzen habe ich 9 Versuchsreihen, deren zahlenmäßige Resultate die am Schlusse dieser Mitteilung befindlichen Tabellen enthalten (Tab. I bis IX).

Von diesen Versuchsreihen muß ich eine (Tab. IV, Versuchsreihe 4) als solche erwähnen, in der die Unterbindung der Nierengefäße nicht vollständig gelang, da es bei der Autopsie zweifelhaft wurde, ob die Arterien tatsächlich vollständig verschlossen waren. Diese Versuchsreihe weicht auch in einigen Beziehungen von den übrigen ab.

Tabelle A.

Mittelwerte.

Nummer der Versuchsreihe	Körpergewicht des Versuchstieres	Vor der Nieren-ausschaltung		Nach der Nieren-ausschaltung		$\frac{CO_2}{O_2}$ der Nierenausschaltung		Nach der Nierenausschaltung Abnahme			
						vor	nach	des O_2-Verbrauchs		der CO_2-Ausgabe	
	g	O_2-Verbrauch pro Min. ccm	CO_2-Ausgabe pro Min. ccm	O_2-Verbrauch pro Min. ccm	CO_2-Ausgabe pro Min. ccm			pro Min. ccm	%	pro Min. ccm	%
1	3600	37,4	30,1	33,3	29,4	0,850	0,883	4,1	11,0	0,7	2,3
2	4000	36,4	27,4	30,9	25,9	0,754	0,833	5,5	14,9	1,5	5,6
3	7500	60,4	48,5	55,4	46,1	0,803	0,830	5,0	7,8	2,4	5,0
4	5850	49,9	45,7	48,0	40,6	0,915	0,851	1,9	3,8	5,1	11,1
5	7400	65,1	50,0	59,1	48,0	0,760	0,811	6,0	9,1	2,0	4,0
6	6000	50,9	40,0	46,0	38,6	0,784	0,852	4,9	9,6	1,4	3,5
7	7200	59,9	50,1	56,7	47,0	0,837	0,830	3,2	5,4	3,1	6,3
8	6700	53,5	39,4	50,7	39,3	0,736	0,775	2,8	5,2	0,1	0,25
9	6100	53,2	44,5	47,1	40,9	0,835	0,869	6,1	11,4	3,6	8,1
Mittelwert	6040	51,9	41,7	47,5	39,5	0,808	0,837	4,4	8,7	2,2	5,1

In allen 9 Versuchsreihen nahm der Gaswechsel nach der Ausschaltung der Nieren ab. Berechnet man für jede Versuchsreihe aus den Versuchen nach der Ausschaltung der Nieren die Mittelwerte, so gelangt man zu jenen Werten,

die mit den Mittelwerten der Grundversuche (vor der Ausschaltung) unmittelbar verglichen werden können. Diese Mittelwerte enthält die Tabelle A (S. 10), in der auch die Zahlen enthalten sind, die die absolute und relative (d. h. die auf Werte der Grundversuche bezogene) Änderung des Gaswechsels angeben.

Zur Vermeidung von Mißverständnissen bemerke ich, daß ich zur Berechnung der Mittelwerte nur jene Versuche herangezogen habe, in denen nach der Ausschaltung der Nieren kein weiterer Eingriff, wie etwa die Injektion einer Lösung, vorgenommen wurde. (In den Tabellen des Anhanges sind nämlich auch letztere Versuche enthalten, von denen im nächsten Kapitel die Rede ist.)

Selbst wenn man von der aus oben angeführtem Grunde nicht einwandsfreien Versuchsreihe 4 absieht, ist der Ausfall im Gaswechsel nach der Ausschaltung der Nieren verschiedener Größe; doch geht aus allen eindeutig hervor, daß nach der Ausschaltung der Nieren sowohl der O_2-Verbrauch als auch die CO_2-Produktion eine sicher nachweisbare Abnahme erleiden. Fast ausnahmslos ist die Abnahme des O_2-Verbrauches bedeutender wie die der CO_2-Ausgabe, was eine Zunahme des $\frac{CO_2}{O_2}$-Quotienten zur Folge hat. Die Zunahme dieses Quotienten blieb nur in dem zweifelhaften Versuche 4 aus. Der Ausfall des O_2-Verbrauches weist auch relativ kleinere Schwankungen auf wie der der CO_2-Ausgabe. (Der sehr kleine Ausfall [2,8 ccm] im Versuche 8 läßt insofern einen Zweifel an seiner Richtigkeit zu, als es nicht ganz sicher ausgeschlossen ist, daß das Tier nach der Ausschaltung zu wenig Curare erhalten hat, was eine Erhöhung des Muskeltonus zur Folge haben konnte, die natürlich den durch die Ausschaltung der Nieren bedingten Ausfall im Gaswechsel verringert.)

Die absolute Größe des Ausfalles läßt keine Beziehung zum Körpergewicht des Tieres erkennen. Beim kleineren Hunde erzeugte die Ausschaltung dieselbe Abnahme des O_2-Verbrauches wie beim größeren (Versuchsreihen 2 und 6). Ist die Größe des Gaswechsels nicht nur von der Menge der lebenden Masse eines Organes, sondern auch von dem Grade seiner Tätigkeit abhängig, so ist diese Beobachtung durchaus verständlich.

Berechnet man aus allen 9 Versuchsreihen den Durchschnitt, so ergibt sich folgendes:

Bei 6,04 kg schweren curarisierten Hunden ist

vor der Ausschaltung der Nieren
der O_2-Verbrauch pro Minute . . 51,9 ccm
die CO_2-Produktion „ „ . . 41,7 ccm

$$\frac{CO_2}{O_2} \ldots 0,808;$$

nach der Ausschaltung der Nieren
der O_2-Verbrauch pro Minute . . 47,5 ccm
die CO_2-Produktinn „ „ . . 39,5 ccm

$$\frac{CO_2}{O_2} \ldots 0,837.$$

Die Ausschaltung der Nieren setzte also pro Minute herab:
den O_2-Verbrauch um 4,4 ccm = 8,7%
die CO_2-Ausgabe „ 2,2 ccm = 5,1%.

Nach unseren obigen Erörterungen entsprechen letztere Zahlen dem Gaswechsel der Nieren, d. h. die Nieren eines 6 kg schweren Hundes verbrauchen pro Minute 4,4 ccm O_2 und produzieren 2,2 ccm CO_2.

Bevor wir nun aus diesen Daten die Größe der Nierenarbeit berechnen, ist es geboten, diese Versuchsergebnisse mit jenen zu vergleichen, die Barcroft und Brodie[1]) auf dem oben angegebenen, von meinem ganz verschiedenen Wege gewonnen haben. Ich gebe die Resultate ihrer Versuche, die sie in ihrer zweiten Mitteilung beschrieben (Journ. of Physiol. 33), in folgender kleiner Tabelle wieder und bemerke, daß die Kolumne „Periode I" die Werte vor und „Periode II" die nach der Injektion eines Diureticums enthält.

Die Mittelwerte der Versuche von Barcroft und Brodie stimmen demnach in der Periode II vollkommen mit dem Mittelwerte meiner Versuche überein und, was ganz besonders bemerkenswert ist, steht auch nach ihren Versuchen die CO_2-Produktion der Nieren in dem-

[1]) J. Barcroft und T. G. Brodie, The gaseous metabolism of the Kidney. Journ. of Physiol. 32, 18, 1905; 33, 52, 1905/06. — J. Barcroft, Zur Lehre vom Blutgaswechsel in den verschiedenen Organen. Ergebn. d. Physiol. 7, 699, 1908.

Nummer der Versuche von Barcroft und Brodie	Periode I pro Minute			Periode II pro Minute			Körpergewicht
	O_2-Verbrauch ccm	CO_2-Produktion ccm	Harnabsonderung ccm	O_2-Verbrauch ccm	CO_2-Produktion ccm	Harnabsonderung ccm	kg
4	0,053	4,40	0,24	4.0	1,80	1,2	—
5	0,057	2,66	0,0	2,95	3,49	0,85	7
6	4,35	1,88	0,05	5,58	3 93	1,53	10
7	1,35	4,05	0.1	4,07	1,07	1,2	31
8	0,90	0,9	0,02	4,3	1,90	4 9	10
Mittel	1,34	2,78	0,08	4,18	2,44	1,93	

selben Verhältnisse zu ihrem O_2-Verbrauche wie in meinen Versuchen. Aber nicht nur die Mittelwerte zeigen diese Übereinstimmung, sondern auch die Schwankungen. Allerdings gilt diese Übereinstimmung mit meinen Versuchen nur für die Periode II der Versuche von Barcroft und Brodie, in denen eine durch Diuretica gesteigerte Diurese bestand. Trotzdem glaube ich, daß meine Versuche viel mehr oder vielleicht nur mit diesen verglichen werden können. Erstens dürfte Periode I der Barcroft und Brodieschen Versuche deshalb zu kleine Werte ergeben, weil den Versuchen vorangehend eine vollständige Eventeration vorgenommen wurde, was auf verschiedenen Wegen eine Herabsetzung oder auch eine vollständige Unterdrückung der Harnabsonderung zur Folge haben konnte. Tatsächlich wurde in Versuch 5 gar kein Harn, in Versuch 6 und 8 nur minimaler Harn ausgeschieden. Auch sprechen die außerordentlich großen Schwankungen selbst im O_2-Verbrauch (zwischen 0,053 und 4,53 ccm) für Störungen im Stoffwechsel der Nieren. Eine solche Störung der Nierenfunktion bestand in meinen Versuchen nicht, denn vor der Nierenausschaltung wurde außer der Tracheotomie und Carotisfreilegung kein Eingriff vorgenommen, und die Curareinjektion selbst hat keine Unterdrückung oder Herabsetzung der Harnabsonderung zur Folge. Auch spricht gerade die auffallende Gleichheit des Verhältnisses zwischen verbrauchtem O_2 und produzierter CO_2 in meinen Versuchen und in der Periode II der Barcroft und Brodieschen Versuche ganz entschieden dafür, daß sie sich auf ähnliche Bedingungen beziehen, während in der Periode I ein vollständig verschiedenes Verhältnis besteht. Daß übrigens

die größere Diurese in der Periode II der Barcroft und Brodieschen Versuche durchaus nicht gegen den unmittelbaren Vergleich mit meinen Versuchen spricht, geht auch aus der Beobachtung der englischen Forscher hervor, daß zwischen Menge des ausgeschiedenen Harnes und verbrauchtem O_2 keine Proportionalität besteht. Ebensowenig spricht auch der Umstand dagegen, daß meine Hunde durchschnittlich etwas kleiner waren wie die von Barcroft und Brodie, denn auch bei ihnen findet sich ebensowenig wie bei meinen Versuchen eine direkte Beziehung zwischen der Größe des Tieres und des Nierengaswechsels.

Ich habe also mittels der Ausschaltung für die Größe des Nierengaswechsels dieselben Werte erhalten wie Barcroft und Brodie auf dem Wege der Blutgasmethode. Diese vollständige Übereinstimnsung erhöht nicht nur die Zuverlässigkeit der Werte, sondern hat auch eine weitere biologische Bedeutung. Wird sie durch weitere Versuche, in denen die Intensität der Harnausscheidung vor der Ausschaltung bestimmt und durch Diuretica variiert werden muß, bestätigt, so daß sich herausstellen würde, daß bei ganz gleicher Diurese tatsächlich beide Methoden identische Werte ergeben, so würde daraus die wichtige Folgerung gezogen werden können, daß die Niere durch innere Sekretion keinen Einfluß auf den Energieumsatz der übrigen Organe ausübt.

Der Gaswechsel der Nieren macht einen erheblichen Teil des gesamten Gaswechsels aus: 8,7 % des O_2-Verbrauches und 5,1 % der CO_2-Produktion im Organismus fallen auf die Nieren. Dieser namhafte Betrag ist um so bemerkenswerter, als die Nieren nur etwa 0,7 % des Körpergewichtes bilden. Freilich bezieht sich dieser Wert auf das curarisierte Tier, beim normalen, nicht vergifteten Tiere wird der Gaswechsel der Nieren einen geringeren Prozentsatz des gesamten Gaswechsels ausmachen, weil letzterer durch den erhöhten Muskeltonus vergrößert ist.

Sicher ist auch, daß der Gaswechsel der Nieren keine konstante Größe hat, sondern, wie das die Untersuchungen von Barcroft und Brodie schon zeigten, innerhalb weiter Grenzen schwankt. Dieser Zusammenhang zwischen Gaswechsel und Sekretionstätigkeit der Nieren muß erst durch weitere, unter

verschiedenen Bedingungen ausgeführte Versuche eingehender untersucht werden, die auch noch darüber Aufklärung zu geben haben, warum die CO_2-Produktion nach der Nierenausschaltung weniger abnimmt als der O_2-Verbrauch, was auch Barcroft und Brodie mit der Blutgasmethode, und zwar in demselben Verhältnisse, gefunden haben. Deshalb stieg in meinen Versuchen der respiratorische Quotient. Ich will auf die Diskussion dieser Erscheinung und der verschiedenen Möglichkeiten ihrer Erklärung diesmal nicht eingehen, weil die Entscheidung doch erst durch weitere Versuche erbracht werden kann.

Bei der Berechnung der Nierenarbeit sind auch Barcroft und Brodie von dem O_2-Verbrauch ausgegangen, und so ist es ganz selbstverständlich, daß, da ich, wie oben (S. 9) auseinandergesetzt wurde, ebenfalls davon ausgehe, für die Nierenarbeit dieselben Werte erhalten muß wie Barcroft und Brodie. Auch das gibt keinen Unterschied, daß sie bei ihrer Berechnung von der Voraussetzung ausgehen, daß der O_2 in der Niere ausschließlich zur Verbrennung von Eiweiß verbraucht wurde, und dementsprechend die Wärmetönung dieses Prozesses in Rechnung setzen. Ich berechne dagegen nach dem Vorgehen von Zuntz den Energieumsatz aus dem O_2-Verbrauche mit Hilfe des respiratorischen Quotienten,[1]) wobei aber der N-Umsatz, der unbekannt ist, unberücksichtigt bleibt, was aber nur einen geringen Fehler bedingt, weil der Energiewert des O_2 bei Eiweißverbrennung nur wenig von den übrigen abweicht und weil nur ein geringer Teil der umgesetzten Energie von Eiweiß bestritten wird.

Die Rechnung gestaltet sich folgenderweise:

O_2-Verbrauch (pro Minute) vor der Ausschaltung der Nieren:

51,9 ccm, $\frac{CO_2}{O_2}$: 0,808;

1 ccm O_2 bei diesem RQ = 4,811 cal. Energieumsatz;

O_2-Verbrauch nach der Ausschaltung der Nieren: 47,5 ccm, $\frac{CO_2}{O_2}$: 0,837;

1 ccm O_2 bei diesem RQ = 4,849 cal. Energieumsatz;

---

[1]) N. Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. 68, 1897, und Zuntz und Loewy, Lehrb. d. Physiol. 1909, 660.

also:

Energieumsatz vor der
Ausschaltung . . . 51,9 × 4,811 = 249,7 cal. pro Min.,
Energieumsatz nach der
Ausschaltung . . . 47,5 × 4,849 = 230,0 cal. pro Min.,

demnach Energieumsatz der Nieren
= Nierenarbeit . . . . 19,7 cal. pro Min.,
d. h. **vom gesamten Energieumsatz des Organismus fallen 7,9 % auf die Arbeit der Nieren.**

Die Minutenarbeit der Nieren beträgt demnach rund 20 cal. = 8,52 m/kg; ihr Gewicht 42 bis 45 g. Rundet man letzteren Wert auf 50 g auf, so fallen auf 1 g Nieren 0,4 cal. Demgegenüber fallen auf 1 g Körpersubstanz in meinem Versuche 0,042 cal. Energieverbrauch pro Minute! Die Nierensubstanz verbraucht also (pro Gewichtseinheit) beinahe das Zehnfache der Energiemenge, die die Körpersubstanz umsetzt. Natürlich gilt für diesen Energiewert dasselbe, was oben für den O_2-Verbrauch gesagt wurde.

Auf das für die Beurteilung der Nierentätigkeit außerordentlich wichtige Verhältnis der aus dem O_2-Verbrauch berechneten Nierenarbeit zu der sog. „osmotischen Arbeit" der Nieren haben schon Barcroft und Brodie hingewiesen, die in ihren Versuchen auch diese Arbeit mit der Galeottischen[1]) Formel aus der Gefrierpunktserniedrigung des Blutes und des während des Versuches ausgeschiedenen Harnes berechneten. Ihre 5 Versuche ergeben als Mittel für die osmotische Arbeit pro Minute 3432 g/cm, während die aus dem O_2-Verbrauch berechnete Arbeit 765000 g/cm betrug. Die erstere schwankte zwischen 0 und 14684 g/cm, die letztere zwischen 232000 und 1170000 g/cm. Diese Versuche bewiesen, daß die osmotische Arbeit (oder richtiger die Konzentrationsarbeit) der Nieren nur einen sehr geringen, etwa $^1/_{220}$ Teil ihrer aus dem O_2-Verbrauch berechneten Gesamtarbeit, also der Nierenarbeit ausmacht, und daß zwischen dieser Nierenarbeit und der osmotischen Arbeit kein einfaches Verhältnis besteht. So war z. B. in ihrem Versuch 8, in dem sich die molekulare Konzentration des Harnes mit der des Blutplasmas als identisch erwies, die osmotische Arbeit = 0, während die gesamte Nierenarbeit 873000 g/cm pro

[1]) G. Galeotti, Über die Arbeit, welche die Nieren leisten usw. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., 1902, 200.

Minute betrug, dagegen war in Versuch 4 die osmotische Arbeit 14684 g/cm, die gesamte Nierenarbeit 840000 g/cm.

Es ist also, wie Barcroft und Brodie mit vollem Rechte betonen, durchaus falsch, aus der „osmotischen Arbeit“ auf die Größe der wirklichen energetischen Leistung der Nieren folgern zu wollen, die nach meinen Versuchen auch bei einer nicht gesteigerten Tätigkeit einen viel größeren Teil des Energieumsatzes des Organismus ausmacht, als es die osmotische Arbeit vermuten läßt.

Mit der aus dem Gefrierpunkte des Blutes und des Harnes berechneten „osmotischen Arbeit“ kann man übrigens auch aus anderen Gründen nicht einmal annähernd die tatsächlich geleistete Konzentrationsarbeit der Nieren erhalten. Ich sehe dabei davon ganz ab, daß Rhorer[1]) nachgewiesen hat, daß die Galeottische Formel zu kleine, also unrichtige Werte ergibt, weil sie nicht die partielle Konzentration der einzelnen gelösten Harnbestandteile berücksichtigt. Tut man das, so erhält man, wie es Rhorer an einem Beispiele für den Menschenharn beweist, 2mal größere Werte. Das ändert allerdings nicht viel an dem Verhältnis dieser „osmotischen Arbeit“ zu der oben berechneten gesamten Nierenarbeit. Diese „osmotische Arbeit“ ist aber nur die theoretisch mögliche minimale Konzentrationsarbeit, die im Falle von reversiblen Prozessen, unter den in Wirklichkeit nie erreichbaren günstigsten energetischen Bedingungen, von den Nierenzellen mindestens geleistet werden müßte. Die tatsächlich geleistete osmotische Arbeit ist aber viel größer, nur wissen wir nicht und können es auch gar nicht berechnen, um wie vieles größer. Dies muß betont werden, um eine unrichtige Deutung der berechenbaren „osmotischen Arbeit“ zu verhüten.

IV.

Das Verhältnis der Nierenarbeit zur spezifisch dynamischen Wirkung der Nährstoffe.

Die Nierenarbeit hat vor kurzem N. Zuntz[2]) auch zur Deutung der von Rubner so genannten „spezifisch dynamischen

[1]) v. Rhorer, Über die osmotische Arbeit der Niere. Arch. f. d. ges. Physiol. 109, 375, 1905.

[2]) N. Zuntz, Verdauungsarbeit und spez.-dynamische Wirkung der Nahrungsmittel. Med. Klinik 1910. Sep.-Abdr.

Wirkung" der Eiweißkörper herangezogen. Die Eiweißkörper bewirken bekanntlich nach ihrer Aufnahme eine viel bedeutendere Steigerung des Gaswechsels als die übrigen Nährstoffe, sie erzeugen aber, wie die grundlegenden Versuche von Mering und Zuntz ergaben, auch dann eine erhebliche Steigerung des O_2-Verbrauches und dementsprechend des Energieumsatzes, wenn sie bzw. ihre Abbauprodukte direkt in die Blutbahn eingeführt werden. „Das braucht aber" — wie Zuntz ausführt — „nicht notwendig darauf zu beruhen, daß beim Abbau der Eiweißkörper chemische Prozesse stattfinden, die dem Körper für seine Leistungen nicht zugute kommen. Es ist vielmehr zu berücksichtigen, daß die Eiweißkörper das Besondere haben, daß sie eine erheblichere Arbeitsleistung der Nieren bewirken." Zur Prüfung der Richtigkeit dieser Voraussetzung ließ Zuntz Versuche anstellen, die vor allem die Frage entscheiden sollten, ob die Anregung der Nierentätigkeit einen merkbaren Ausschlag im Gesamtgaswechsel bedingt. In den Versuchen, die Steck am Menschen und Hunde anstellte, wurden Harnstoff und Kochsalz als solche Substanzen eingenommen, die keine chemischen Veränderungen im Organismus erleiden, aber die Nierentätigkeit anregen.

Für beide Substanzen ergaben die Versuche eine nicht unerhebliche Steigerung des Energieumsatzes: für den Harnstoff auf 1 g aufgenommenen N beim Hunde eine Steigerung um 0,49 bis 0,53 Cal., beim Menschen um 0,94 bis 1,37 Cal. Das Kochsalz erzeugte eine Steigerung des Energieumsatzes während mehr als $1^1/_2$ Stunden über $19^0/_0$. Zuntz folgert nun, daß wenigstens 20 bis $25^0/_0$ der Stoffwechselsteigerung nach Eiweißnahrung auf die Vorgänge zu beziehen sind, die beim Harnstoff allein in Betracht kommen, auf die Resorption, die Sekretion durch die Nieren und die Beeinflussung sonstiger Organleistungen durch den Harnstoff. Dasselbe gilt für das Kochsalz. Im gleichen Sinne verwertet Zuntz ältere Versuche von Nehring und Schmoll an Diabetikern, bei denen nach Zufuhr von Traubenzucker, der unverändert ausgeschieden wurde, der O_2-Verbrauch um $9^0/_0$ stieg. Ebenso deutet er auch ältere Phlorizinversuche an nüchternen Hunden, bei denen nach Verabreichung des Phlorizins der O_2-Verbrauch um 5 bis $14^0/_0$ gesteigert war. Auch hier sieht Zuntz als nächstliegende Er-

klärung für die Steigerung des Energieumsatzes die erheblich stärkere Beanspruchung der Nieren an.

So sehr die von Zuntz angeführten Erfahrungen dafür sprechen, daß die Steigerung des Energieumsatzes in den besprochenen Versuchen wenigstens zum großen Teil auf erhöhte Nierentätigkeit zurückzuführen sind, so geht doch schon aus der Mitteilung von Zuntz hervor, daß er selbst die Frage noch nicht für entschieden hält. Er selbst schließt die Möglichkeit der „Beeinflussung sonstiger Organleistungen durch den Harnstoff“ nicht aus und weist sogar auf den Weg hin, auf dem eine Entscheidung erbracht werden könnte.

Meine oben beschriebenen Versuche boten mir eine günstige Gelegenheit, dieser Frage näher zu treten. Beruht die den O_2-Verbrauch steigernde Wirkung des Harnstoffes und des Kochsalzes ganz oder auch nur vorwiegend darauf, daß sie die Nierentätigkeit anregen, also die Nierenarbeit vergrößern, so muß die steigernde Wirkung ausbleiben, wenn schon vor ihrer Verabreichung die Nieren exstirpiert oder aus dem Stoffwechsel ausgeschaltet sind. Ich habe also in meinen Versuchen nach einer Reihe von Respirationsversuchen, mit denen ich den Gaswechsel nach der Ausschaltung der Nieren bestimmte, die fraglichen Substanzen einverleibt und dann wieder den Gaswechsel bestimmt. Da alle Versuche an curarisierten Tieren und vor und nach der Zufuhr der untersuchten Stoffe unter denselben Bedingungen ausgeführt wurden, so ist, wie oben (S. 5) ausgeführt wurde, die eintretende Veränderung die unmittelbare Wirkung des zugeführten Stoffes. In einer Anzahl von Versuchen habe ich den Gaswechsel vor der Ausschaltung der Nieren nicht bestimmt.

Der Verlauf der Versuche war folgender:

Nachdem die in Kapitel III beschriebenen Operationen und Respirationsversuche am curarisierten Tiere ausgeführt waren, wurde die auf Körpertemperatur erwärmte Harnstoff- bzw. Kochsalzlösung mittels einer Magensonde dem im Thermostaten liegenden Tiere eingegossen, worauf dann sofort genau so wie vor der Injektion die Respirationsversuche fortgesetzt wurden. Außer den genannten Stoffen habe ich in einigen Versuchen, in denen ich die Wirkung der Eiweißzufuhr auf den Gaswechsel nierenloser Tiere sehen

wollte, eine mit dem Inhalt von 2 Hühnereiern bereitete Emulsion bzw. eine Caseinemulsion in den Magen gegossen. Schließlich wurde in einigen Versuchen die Harnstoff- bzw. NaCl-Lösung nicht in den Magen gegossen, sondern in langsamem Strome aus einer Bürette — auf Körpertemperatur gewärmt — unmittelbar in die Vena jugularis gelassen, womit die Wirkung dieser Stoffe bei Umgehung des Verdauungskanales geprüft werden sollte.

Die Ergebnisse dieser Versuche enthalten die Tabellen am Schlusse dieser Mitteilung.

Mit Eierinhalt wurden 3 Versuchsreihen ausgeführt (Tab. II, III, IV). Der Inhalt von 2 Hühnereiern betrug 73 bis 92 g. Mit Wasser wurde eine Emulsion bereitet und dann in den Magen gegossen. Auf diese Weise gelangten auf einmal etwa 12 g Eiweiß in den Magen. Die Respirationsversuche wurden 3 bis 4 Stunden nach dem Eingießen fortgesetzt. Bei der Autopsie überzeugte ich mich dann, daß um diese Zeit noch ein guter Teil der Eiemulsion im Magen war; bei Hund 3 (Tab. III) waren noch 70 cm im Magen.

Caseinemulsionen — mit 20 bis 25 g Casein — habe ich in 4 Versuchsreihen eingegossen. 3 bis 4 Stunden nach der Eingießung war noch immer ziemlich viel Casein im Magen (Tab. V, VI, X, XI).

In diesen 7 Versuchsreihen wurde also Tieren, deren Nieren entweder entfernt oder aus dem Kreislaufe ausgeschaltet waren, Eiweiß in den Verdauungskanal zugeführt, und bei allen 7 Tieren erfolgte ausnahmslos eine Steigerung des O_2-Verbrauches. Die CO_2-Produktion stieg nicht in allen Versuchen, und auch da, wo eine allerdings nur vorübergehende Steigerung zu bemerken war, war sie viel geringer wie beim O_2-Verbrauch.

Die erste halbe Stunde nach dem Eingießen der Emulsion war noch keine Steigerung des O_2-Verbrauches zu bemerken, dagegen war sie in allen 3 Versuchsreihen bereits nach einer Stunde ganz ausgesprochen und hielt sich meist zunehmend bis ans Ende des Versuches (3 bis 4 Stunden nach dem Eingießen).

Nach dem Eingießen der Caseinemulsion stieg nur einmal in der ersten halben Stunde der O_2-Verbrauch, doch ging er bei diesem gerade so wie bei den übrigen später ein wenig

zurück, um dann wieder anzusteigen und nach 3 Stunden das Maximum zu erreichen. Nur bei einem Hunde (Vers. 6) kam das Maximum bereits nach $1^1/_2$ Stunden zum Vorschein, doch war es unbedeutend.

Ich habe für die oben besprochenen 7 Versuchsreihen aus den Versuchen vor und nach Eingießung des Eiweißes die Mittelwerte des O_2-Verbrauches und der CO_2-Ausgabe berechnet und in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle B.

Mittelwerte.

Nummer der Versuchsreihe	Körpergewicht in g	O_2-Verbrauch vor der Injektion in den Magen, im Mittel, pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe vor der Injektion in den Magen, im Mittel, pro Minute ccm	O_2-Verbrauch nach der Injektion in den Magen, im Mittel, pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe nach der Injektion in den Magen, im Mittel, pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$ vor der Injektion	$\frac{CO_2}{O_2}$ nach der Injektion	Nach der Injektion Veränderung des O_2-Verbrauches ccm	Nach der Injektion Veränderung des O_2-Verbrauches %	Nach der Injektion Veränderung der CO_2-Ausgabe ccm
Versuche mit Eiemulsion.										
2.	4000	30,9	25,9	34,6	28,0	0,833	0,809	+ 3,7	+ 11,9	+ 2,1
3.	7500	55,4	46,1	58,2	44,3	0,830	0,760	+ 2,8	+ 5,1	− 1,8
4.	5850	48,0	40,6	52,1	40,2	0,851	0,771	+ 4,1	+ 8,5	− 0,4
Versuche mit Caseinemulsion.										
5.	7400	59,1	48,0	61,5	47,8	0,811	0,776	+ 2,4	+ 4,1	− 0,2
6.	6000	46,0	38,6	47,8	36,5	0,852	0,818	+ 1,8	+ 3,9	− 2,1
10.	7000	60,6	53,9	61,8	52,1	0,887	0,843	+ 1,2	+ 2,0	− 1,8
11.	6900	55,0	44,8	56,7	44,6	0,814	0,787	+ 1,7	+ 3,1	− 0,2

Diese Zahlen beweisen, daß in den 2 bis $3^1/_2$ Stunden nach der Zufuhr der Eiemulsion der O_2-Verbrauch durchschnittlich um 5 bis 12%, nach Zufuhr der Caseinemulsion um 2 bis 4% zugenommen hat.

Das ist die durchschnittliche Erhöhung. Vorübergehend war aber die Erhöhung größer. So betrug die maximale Steigerung des O_2-Verbrauches (auf den Mittelwert vor dem Eingießen bezogen):

in den Eiversuchen:

in Versuchsreihe 2 pro Min. 5,3 ccm = 17,1%, $3^1/_2$ St. n. d. Eingießen
„ „ 3 „ „ 5,3 „ = 9,3%, 2 „ „ „ „
„ „ 4 „ „ 6,8 „ = 14,2%, $2^1/_4$ „ „ „ „

in den Kaseinversuchen:

in Versuchsreihe 5 pro Min. 6,3 ccm = 10,7 $^0/_0$, 4 St. n. d. Eingießen

„ „ 6 „ „ 1,7 „ = 3,7 $^0/_0$, $1^1/_2$ „ „ „ „

„ „ 10 „ „ 4,2 „ = 6,9 $^0/_0$, $3^1/_4$ „ „ „ „

„ „ 11 „ „ 5,6 „ = 10,2 $^0/_0$, $3^3/_4$ „ „ „ „

Aus diesen Versuchen geht zweifellos hervor, daß die Zufuhr von Eiweiß auch nach Ausschaltung der Nieren den O_2-Verbrauch, also auch den Energieumsatz erhöht. Aus den angeführten Versuchen ist aber nicht zu erkennen, ob diese Erhöhung des O_2-Verbrauches gleich groß oder geringer ist als diese Erhöhung bei normaler Nierenfunktion. Dazu müßte vor allem die Menge des resorbierten Eiweißes bestimmt werden, die wahrscheinlich in den Caseinversuchen eine sehr geringe war. Weitere Versuche müßten auch darüber Aufklärung bringen, warum die CO_2-Produktion nicht oder nur in geringem Maße zunahm.

Jedenfalls sprechen aber schon diese Versuche ganz entschieden dafür, daß die nach Eiweißzufuhr eintretende Erhöhung des Gaswechsels kaum durch Anregung der Nierenfunktion erklärt werden kann. Dagegen lassen sie freilich die Frage unentschieden, wodurch die Zunahme des O_2-Verbrauches erzeugt wird. Vor allem schließen sie die Möglichkeit nicht aus, daß die Erhöhung des O_2-Verbrauches der Ausdruck der Verdauungsarbeit ist. Ja wahrscheinlich fällt auch ein Teil auf diese Verdauungsarbeit im Zuntzschen Sinne.

Nun fällt aber die Verdauungsarbeit bei der Zufuhr von Harnstoff und Kochsalz sicher weg, höchstens könnte es sich da um die Resorptionsarbeit (und gesteigerte Peristaltik) handeln, doch läßt sich auch diese ausschließen, wenn die erwähnten Stoffe unmittelbar in das Blut gebracht werden.

Mit Harnstoffinfusion habe ich 4 Versuchsreihen, mit Kochsalz 3 Versuchsreihen ausgeführt (s. Tab. VII, VIII, XII bis XVI im Anhang).

Den Harnstoff (12 bzw. 10 g) habe ich in wässeriger Lösung 2 Hunden (Vers. 7 und 12) in den Magen, und 2 Hunden (Vers. 13 und 8) in die Vena jugularis gebracht. Die NaCl-Lösung wurde im langsamen Strome in 3 Versuchsreihen in die Vena jugularis gebracht. (115 bis 145 ccm 5 $^0/_0$iger Lösung innerhalb 47 bis 50 Minuten.)

In allen Versuchen erfolgte ausnahmslos nach der Infusion der Harnstoff- bez. Kochsalzlösung eine sehr bedeutende Erhöhung des Gaswechsels. **Die Zufuhr von Harnstoff- bzw. Kochsalzlösung erzeugt also auch nach Ausschaltung der Nieren eine bedeutende Erhöhung des Energieumsatzes.**

Berechnet man aus den Versuchen vor und nach der Infusion die Mittelwerte, so erhält man folgende Zahlen:

Tabelle C.
Mittelwerte.

Nummer der Versuchsreihe	Körpergewicht in g	O_2-Verbrauch vor der Injektion (ccm)	CO_2-Ausg. vor der Injektion (ccm)	O_2-Verbrauch nach der Injektion (ccm)	CO_2-Ausg. nach der Injektion (ccm)	$\frac{CO_2}{O_2}$ vor der Injektion	$\frac{CO_2}{O_2}$ nach der Injektion	Nach der Injektion Veränderung des O_2-Verbrauches (ccm)	des O_2-Verbrauches (%)	der CO_2-Ausgabe (ccm)	Anmerkungen
		im Mittel, pro Min.									
7	7200	56,7	47,0	58,2	49,8	0,830	0,855	+ 1,5	+ 2,6	+ 2,8	12 g Ū in 110 ccm Wasser i. d. Magen
12	6200	39,2	33,6	40,0	34,1	0,859	0,853	+ 0,8	+ 2,0	+ 0,5	10 g Ū in 100 ccm Wasser i. d. Magen
13	4750	33,8	29,3	43,1	32,9	0,867	0,762	+ 9,3	+ 27	+ 3,6	100 ccm 5%ige Ū-Lösung i. d V. jugularis
8	6700	50,7	39,3	49,3	39,6	0,775	0,803	− 1,4	− 2,8	+ 0,3	do.

Das Mittel des O_2-Verbrauches nach der Infusion ist mit Ausnahme einer Versuchsreihe (8) größer als vor der Infusion, die Harnstofflösung hat also den O_2-Verbrauch erhöht. Die CO_2-Produktion nahm bald mehr bald weniger zu wie der O_2-Verbrauch, so daß der $\frac{CO_2}{O_2}$-Quotient bald größer bald kleiner wurde. Die durchschnittliche Zunahme des O_2-Verbrauches beträgt 2 bis 27%. Die Zunahme bei Hund 10 (Tab. XII) war tatsächlich größer als 2%, da die Nieren erst unmittelbar vor der Injektion der Harnstofflösung ausgeschaltet wurden. Der O_2-Verbrauch vor der Injektion bezieht sich also auf den Zustand mit erhaltener Nierenfunktion, in welchem

der O_2-Verbrauch wie oben gezeigt wurde, um etwa 8% größer ist; dementsprechend muß der mit diesem Zustand verglichene Anstieg nach der Harnstoffinjektion zu gering ausfallen.

Die großen Unterschiede in der Steigerung des O_2-Verbrauchs dürften auf die Störungen des Stoffumsatzes zurückzuführen sein, die die Überschwemmung des Blutes mit der $\overset{+}{U}$-Lösung (bei intravenöser Injektion) erzeugt.

Die maximale Steigerung des O_2-Verbrauches nach der $\overset{+}{U}$-Injektion betrug (auf den Mittelwert vor der Injektion bezogen):

in der Versuchsreihe	7	3,2 ccm	pro	Minute	= 5,6%
„ „ „	12	1,5 „	„	„	= 3,8%
„ „ „	13	11,5 „	„	„	= 34 %
„ „ „	8	4,2 „	„	„	= 8,3%

Die durchschnittliche Erhöhung des O_2-Verbrauches ist geringer als nach der Zufuhr von Eiweiß, die maximale Steigerung ist jedoch größer.

Mit Ausnahme des Vers. 8 zeigte sich das Maximum der Steigerung bereits 1/2 bis 3/4 Stunden nach der Injektion.

Für die NaCl-Versuche habe ich in ähnlicher Weise die Mittelwerte berechnet:

Tabelle D.

Mittelwerte.

Nummer der Versuchsreihe	Körpergewicht in g	O_2-Verbrauch vor der intravenös. Injektion im Mittel, pro Min. ccm	CO_2-Ausg. vor der intravenös. Injektion im Mittel, pro Min. ccm	O_2-Verbrauch nach der intraven. Injektion im Mittel, pro Min. ccm	CO_2-Ausg. nach der intraven. Injektion im Mittel, pro Min. ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$ vor der Injektion	$\frac{CO_2}{O_2}$ nach der Injektion	Nach d. intravenösen Injektion Zunahme des O_2-Verbrauches ccm	Nach d. intravenösen Injektion Zunahme des O_2-Verbrauches %	Nach d. intravenösen Injektion Zunahme der CO_2-Ausgabe ccm	Anmerkungen
14	4600	33,3	29,4	43,6	33,4	0,884	0,766	+ 10,3	+ 30,9	+ 4,0	115 ccm 5%ige NaCl-Lösung
15	5800	46,3	37,3	52,6	40,0	0,807	0,760	+ 6,3	+ 13,6	+ 2,7	145 ccm 5%ige NaCl-Lösung
16	5400	47,6	44,9	53,7	48,1	0,943	0,895	+ 6,1	+ 12,8	+ 3,2	135 ccm 5%ige NaCl-Lösung

Die intravenöse Kochsalzinjektion hat also den Gaswechsel bedeutend erhöht, und zwar sowohl den O_2-Verbrauch als auch die CO_2-Produktion, erstere aber in höherem Maße, so daß in allen Versuchen der respiratorische Quotient abnahm. Der durchschnittliche O_2-Verbrauch nahm um 13 bis 31 % zu, während die maximale Steigerung

in der Versuchsreihe	14	13,1 ccm	= 39 %
„ „ „	15	7,0 „	= 15 %
„ „ „	16	10,8 „	= 23 %

betrug.

Die intravenöse Infusion einer 5 %igen Kochsalzlösung führt demnach auch nach der Ausschaltung der Nieren zu einer bedeutenden Erhöhung des O_2-Verbrauches, also des Energieumsatzes. Die maximalen Werte der Steigerung kamen schon in der 1. halben Stunde nach Beginn der Infusion zur Beobachtung, zu einer Zeit, wo die Infusion noch nicht beendet war.

Die intravenösen Harnstoff- und Kochsalzinfusionen beweisen zweifellos, daß es Substanzen gibt, die, wenn sie in die Blutbahn gelangen, auch ohne Anregung der Nierenarbeit den Gaswechsel, den Energieumsatz steigern können. Da bei dieser Versuchsanordnung eine Verdauungs- oder eine Resorptionsarbeit ausgeschlossen ist, so kann diese Wirkung so gedeutet werden, daß diese Substanzen die Stoffwechselvorgänge beeinflussen, die chemischen Reaktionen beschleunigen, so daß in der Zeiteinheit mehr O_2 verbraucht, mehr chemische Energie in Wärme umgewandelt wird. Das könnte auch als „spezifisch-dynamische“ Wirkung gedeutet werden.

Doch scheint es, daß diese Substanzen nicht nur die Reaktionen beschleunigen, sondern dieselben auch qualitativ verändern. Dafür spricht die Veränderung des respiratorischen Quotienten. In den meisten Versuchen nahm er ab, und zwar deshalb, weil die CO_2-Produktion weniger gesteigert wurde wie der O_2-Verbrauch, möglicherweise infolge unvollständiger Oxydation.

Ein Einwand läßt sich aber gegen diese Deutung noch erheben, besonders in jenen Versuchen, in denen die Harnstoff- bzw. Kochsalzlösung in die Blutbahn gebracht wurde. Mit diesen Lösungen wird nämlich die Flüssigkeitsmenge in den

Blutgefäßen vermehrt, was möglicherweise, weil doch die Nieren ausgeschaltet sind, zu einer Erhöhung des Blutdrucks und damit zur Vermehrung der Herzarbeit führt. Man könnte also daran denken, daß vielleicht dieser Umstand die Erhöhung des O_2-Verbrauches verursachte. Wohl wurde in einigen Versuchen (13) eine Erhöhung (und zwar in diesem Versuche eine namhafte um etwa 40 mg) beobachtet, in den anderen dagegen nicht (Versuchsreihe 8), so z. B. bei den Kochsalzversuchen — und doch trat auch bei diesen eine Erhöhung des O_2-Verbrauches ein. Sie ist also unabhängig von der Blutdruckerhöhung.

Freilich kann auch, wenn die Blutdrucksteigerung ausbleibt, die Herzarbeit durch Vergrößerung des Blutvolums gesteigert sein. Es wäre also immerhin möglich, daß die intravenöse Injektion nur oder hauptsächlich auf diesem Wege den Energieumsatz steigerte. Daß es sich aber in meinen Versuchen nicht nur um diese Erhöhung der Herzarbeit handeln kann, beweisen die Versuchsreihen 7 und 12, bei denen die $\overset{+}{U}$-Lösung in den Magen gegossen wurde und schon kurze Zeit darauf der O_2-Verbrauch erhöht war. Auch habe ich Versuche, in denen über 100 ccm Dextroselösung in die Vene injiziert wurde, ohne daß die geringste Erhöhung des O_2-Verbrauches eingetreten wäre. Da ist auch die Versuchsreihe 9, in der dem Hunde 200 ccm einer $20\,^0/_0$igen Dextroselösung in den Magen gegossen wurde. Wie die Tab. IX zeigt, bleibt der O_2-Verbrauch nach dem Eingießen unverändert. (Siehe auch die folgende Arbeit von Verzàr.)

Es bleibt so als wahrscheinlichste Deutung die, daß der injizierte Harnstoff bzw. das Kochsalz durch ihre Wirkung auf das Zellprotoplasma den Stoff- und Energieumsatz erhöhen. In welchen Organen dies stattfindet, bleibt dahingestellt.

Auf Grund dieser Erfahrung lassen auch die Versuche mit Hühnereiweiß und Casein, die, wie wir sahen, auch nach der Ausschaltung der Nieren zu einer Erhöhung des O_2-Verbrauches führten, bei der Deutung letzterer Erscheinung die Möglichkeit zu, daß bei der Verdauung dieser Stoffe im Magendarmkanal solche Produkte entstehen, die, ins Blut gelangt, auf die verschiedenen Organzellen eine ähnliche oxydationssteigernde Wirkung

ausüben wie der Harnstoff oder das Kochsalz. Damit ist natürlich nicht gesagt, daß die Steigerung des O_2-Verbrauches nach Eiweißzufuhr nicht teilweise oder in gewissen Fällen großenteils sicher auf Verdauungsarbeit beruht.

Noch eine Beobachtung spricht für obige Deutung, wenn sie auch nicht direkt beweisend ist. Die maximale Steigerung zeigte sich nach der Eiweiß- und Caseinzufuhr erst nach 2 bis 4 Stunden, meist nach 3 Stunden. Nun beginnt die Verdauungsarbeit gleich nach der Einverleibung dieser Substanzen, jedenfalls ist sie schon in der 1. Stunde sehr intensiv — die maximale Steigerung des O_2-Verbrauchs tritt jedoch (in der 2. bis 3. Stunde) erst dann auf, wenn schon die Resorption einer gewissen Menge Verdauungsprodukte stattgefunden hat. Gegen diese Erklärung läßt sich aber eben auf Grund der Harnstoffversuche ein Einwand erheben, der ohne direkte experimentelle Prüfung nicht zurückgewiesen werden kann. Es wäre nämlich denkbar, daß die Steigerung des O_2-Verbrauches der bei Ausschaltung der Nieren nach Eiweißzufuhr erst nach 2 bis 3 Stunden auftritt, gar nicht mit der Eiweißzufuhr zusammenhängt, sondern die Folge der Nierenausschaltung selbst ist, die zu einer Anhäufung der Stoffwechselprodukte im Blute führt. Unter diesen befindet sich der Harnstoff, von dem gerade nachgewiesen wurde, daß er, ins Blut gelangt, zu einer Erhöhung des Energieumsatzes führt. Es ist also a priori nicht unmöglich, daß nach der Nierenexstirpation infolge der Anhäufung von Harnstoff und anderer Stoffwechselprodukte der O_2-Verbrauch nach 2 bis 3 Stunden auch ohne Eiweißzufuhr wächst. Die Frage habe ich in zwei besonders zu diesem Zwecke angestellten Versuchsreihen entschieden. Ich habe bei einem Hunde (Tab. XVII) die Nieren durch Unterbindung der Gefäße ausgeschaltet, beim anderen (Tab. XVIII) die Nieren exstirpiert. Die Tiere waren ebenso wie bei den übrigen Versuchen curarisiert und im Thermostaten untergebracht, worauf dann in den folgenden 7 bzw. 8 Stunden mit kurzen Intervallen eine Reihe von 10 bis $11^1/_2$ Minuten dauernden Respirationsversuchen ausgeführt wurden. Die Ergebnisse sind in den Tabellen XVII und XVIII im Anhange angeführt.

In beiden Versuchen stieg der O_2-Verbrauch nach der Nierenausschaltung langsam stetig, während die CO_2-Produktion

unverändert blieb, in dem einen Versuche eher noch zurückging. Dementsprechend verringert sich der respiratorische Quotient. Die Nierenausschaltung führt demnach tatsächlich zu einer fortschreitenden Erhöhung des O_2-Verbrauches — doch beginnt die Erhöhung erst nach $3^1/_2$ bis 4 Stunden und steigt langsam an. Die bedeutendere Erhöhung des O_2-Verbrauches, die nach Eiweißzufuhr bereits nach 2 Stunden beobachtet wurde, kann also nicht einfach die Folge der Nierenexstirpation sein. Immerhin ist aber die Tatsache, daß eine gewisse Zeit nach Ausschaltung der Nieren der O_2-Verbrauch langsam anzusteigen beginnt, deshalb von besonderem Interesse, weil sie dafür spricht, daß bei der oxydativen Zersetzung der Körperbestandteile solche Zerfallsprodukte entstehen, die, wenn sie nicht ausgeschieden werden, zur Erhöhung des Energieumsatzes führen. Wahrscheinlich handelt es sich da nicht nur um Harnstoff.

Die Versuche mit Ausschaltung der Nieren haben demnach erkennen lassen, daß die Zufuhr von Eiweiß, Harnstoff oder Kochsalz auch dann zu einer Erhöhung des O_2-Verbrauches führen kann, wenn die Nierentätigkeit ausgeschaltet ist. Zur Erklärung jenes Teiles der „spezifisch-dynamischen Wirkung" des Eiweißes, der nicht auf die Verdauungsarbeit fällt, kann also erhöhte Nierentätigkeit kaum herangezogen werden. Harnstoff und Kochsalz können bei Ausschluß der Nierentätigkeit auch nach intravenöser Injektion den O_2-Verbrauch erhöhen. Die einfachste Erklärung gibt die Wirkung, die N. Zuntz als Möglichkeit bereits ins Auge gefaßt hat: „Die Beeinflussung sonstiger Organleistungen".

Auf die Erörterung dieser Beeinflussung, die gleichzeitig eine Diskussion der „spezifisch-dynamischen Wirkung" wäre, will ich diesmal nicht eingehen. Das soll an anderer Stelle geschehen.

Ich möchte auch an dieser Stelle meinen Assistenten Dr. F. Verzár und St. Cserna für die bereitwillige und eifrige Mithilfe, mit der sie mich bei diesen Versuchen unterstützten, meinen Dank aussprechen.

Anhang.

Tabellen I bis XVIII.

(Die in den Tabellen angegebenen Gasvolumina sind alle auf 0° und 760 mm Hg bezogen.)

Tabelle I.

Nummer der Versuchsreihe: 1. Körpergewicht: 3600 g. Datum: 5. III. 1910.

Nr.	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
1	10h 40′	11′ 05″	2014	1,730	1,557	38,84	29,67	0,851	38,70 38,55	
2	11h 01′	12′ 29″	2013	1,790	1,603	36,03	30,58	0,848	38,70 38,86	
3	11h 43′	8′ 26″	2048	1,692	1,581	34,65	30,66	0,884	38,71 38,60	11h 30′ Unterbindung d. Nierengefäße.
4	12h 03′	8′ 32″	2045	1,646	1,525	33,66	29,47	0,876	38,36 38,22	
5	12h 22′	8′ 30″	2060	1,537	1,454	31,66	28,22	0,891	38,81 38,92	

Tabelle II.

Nummer der Versuchsreiche: 2. Körpergewicht: 4000 g. Datum: 14. II. 1910.

Nr.	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
1	9h 21′	10′ 13″	1606	2,374	1,795	38,12	27,48	0,721	38,31 38,56	
2	9h 39′	10′ 44″	1599	2,162	1,806	34,57	27,53	0,796	38,45 38,26	
3	10h 03′	10′ 52″	1621	2,147	1,753	34,80	27,05	0,777	38,28 38,24	
4	10h 23′	10′ 42″	1631	2,327	1,765	37,96	27,42	0,722	38,31 38,38	
5	11h 28′	10′ 32″	1681	1,885	1,673	31,69	26,71	0,842	38,32 38,50	10h 45′ Nierenexstirpation.
6	11h 55′	10′ 00″	1690	1,749	1,546	29,56	24,71	0,835	38,33 38,10	
7	12h 33′	11′ 15″	1646	1,891	1,608	31,12	25,08	0,805	38,20 38,40	
8	1h 04′	10′ 48″	1640	1,905	1,725	31,24	26,91	0,861	38,52 38,30	

Tabelle II (Fortsetzung).

Nr. des Versuchs	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
9	1h 56'	10' 33"	1637	1,819	1,760	29,77	27,43	0,921	38,11 38,29	1h 22' mittels Magensonde 200 ccm Emulsion, in welcher 92 g Eierinhalt war.
10	2h 26'	10' 05"	1710	2,108	1,764	36,04	28,72	0,797	38,31 38,25	
11	3h 14'	10' 14"	1652	2,165	1,785	35,77	28,10	0,785	38,60 38,73	
12	4h 04'	10' 10"	1732	2,032	1,696	35,19	27,92	0,793	38,19 88,29	
13	5h 09'	9' 29"	1857	1,952	1,591	36,24	27,98	0,772	38,64 38,62	

Tabelle III.

Nummer der Versuchsreihe: 3. Körpergewicht: 7500 g.

Datum: 28. II. 1910.

Nr. des Versuchs	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	1h 36'	9' 14"	2405	2,461	2,096	59,20	48,40	0,817	38,10 38,05	188	
2	2h 09'	9' 51"	2538	2,428	1,999	61,61	48,60	0,789	38,16 38,08	175 128	
3	3h 05'	8' 36"	2655	2,062	1,797	54,75	45,48	0,831	38,78 38,61	128	Nierenexstirpation von 2h 18' bis 2h 40'.
4	3h 43'	8' 42"	2732	2,052	1,787	56,06	46,52	0,830	38,18 38,29	160	
5	4h 33'	9' 34"	2576	2,012	1,775	51,82	43,55	0,840	38,31 38,38	162	4h 10' mittels Magensonde 230 ccm Emulsion, in welcher 88 g Eierinhalt war. Ein Teil fließt durch die Speiseröhre zurück, worauf sie unterbunden wird.
6	5h 09'	8' 37"	2841	2,107	1,719	59,86	46,45	0,776	38,08 38,21	163	
7	5h 59'	8' 07"	2838	2,139	1,625	60,70	43,73	0,720	38,32 38,58	160	
8	6h 28'	8' 38"	2738	2,213	1,667	60,61	43,36	0,715	38,36 38,24	155	

Tabelle IV.

Nummer der Versuchsreihe: 4. Körpergewicht: 5850 g.

Datum: 3. III. 1910.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	11h 06′	8′ 24″	2084	2,361	2,293	49,21	46,04	0,935	38,12 38,24	108	
2	11h 40′	9′ 19″	1936	2,615	2,427	50,63	45,36	0,896	38,50 38,42	98	
3	1h 01′	9′ 52″	1897	2,561	2,260	48,58	41,27	0,849	38,30 38,28	106	12h 15′ Unterbindung der Nierengefäße.
4	1h 57′	9′ 36″	1896	2,507	2,224	47,54	40,58	0,854	38,20 38,20	118	
5	2h 32′	9′ 29″	1918	2,500	2,211	47,95	40,79	0,851	38,13 38,13	120	
6	3h 35′	8′ 39″	1916	2,518	2,193	48,25	40,41	0,837	38,01 38,02	108	2h 50′ mittels Magensonde 220 ccm Emulsion, in der 73 g frisches Eiereiweiß war.
7	4h 16′	9′ 05″	1932	2,649	2,091	51,17	38,77	0,758	38,08 38,10	98	
8	5h 05′	9′ 06″	1968	2,784	2,101	54,80	35,70	0,724	38,32 38,40	98	
9	5h 29′	9′ 03″	1992	2,714	2,234	54,07	42,83	0,792	38,50 38,49	130	

Tabelle V.

Nummer der Versuchsreihe: 5. Körpergewicht: 7400 g.

Datum: 14. IX. 1910.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute				
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	
1	10h 38′	9′ 14″	1788	3,647	2,804	65,21	50,14	0,738	39,10 39,29	
2	10h 51′	9′ 00″	1835	3,488	2,721	64,03	49,95	0,780	39,29 39,22	
3	11h 10′	8′ 47″	1880	3,479	2,626	65,41	49,37	0,755	39,12 39,10	
4	11h 30′	8′ 20″	1913	3,442	2,638	65,86	50,48	0,767	39,15 39,20	

Tabelle V (Fortsetzung).

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute				
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	
5	11h 59′	8′ 16″	1947	3,000	2,390	58,42	46,54	0,796	38,83 38,70	Unterbindung d. Nierengefäße um 11h 41′.
6	12h 15′	8′ 40″	1929	3,046	2,482	58,77	47,89	0,815	38,62 38,72	
7	12h 34′	8′ 30″	1943	3,093	2,543	60,11	49,42	0,822	38,70	
8	1h 49′	9′ 42″	1834	3,269	2,419	59,98	44,38	0,723	38,82 39,20	1h 35′ mittels Magensonde 25 g Casein in 200 ccm Wasser.
9	2h 53′	8′ 26″	1868	3,107	2,528	58,06	47,24	0,814	39,30 39,10	
10	3h 19′	9′ 41″	1882	3,168	2,470	59,64	46,50	0,780	38,99 39,06	
11	4h 05′	8′ 53″	1928	3,308	2,576	63,81	49,68	0,779	39,28 39,25	
12	4h 49′	9′ 10″	1888	3,296	2,573	62,24	48,61	0,779	39,08 39,12	
13	5h 33′	8′ 47″	1882	3,475	2,617	65,43	49,28	0,753	39,50 39,50	

Tabelle VI.

Nummer der Versuchsreihe: 6. Körpergewicht: 6000 g.
Datum: 5. XII. 1910.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	11h 35′	11′ 53″	1473	3,380	2,662	49,79	39,21	0,787	38,90 38,90	110	
2	11h 55′	12′ 10″	1489	3,496	2,715	51,95	40,43	0,778	38,90 38,88	118	
3	12h 20′	12′ 22″	1473	3,469	2,740	51,12	40,37	0,789	38,80 38,80	120	
4	1h 10′	11′ 58″	1490	3,114	2,545	46,40	37,92	0,871	38,60 38,60	118	12h 50′ Unterbindung d. Nierengefäße.
5	1h 30′	12′ 10″	1470	3,113	2,649	45,76	38,94	0,850	38,60 38,60	115	
6	1h 55′	12′ 29″	1456	3,133	2,640	45,62	38,44	0,842	38,70 38,78	108	

Tabelle VI (Fortsetzung).

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
7	2h 25′	12′ 27″	1435	3,225	2,717	46,29	38,99	0,848	38,86 38,90	120	
8	3h 10′	12′ 04″	1458	3,119	2,521	45,47	36,75	0,808	38,30 38,22	107	2h 50′ mittels Magensonde 20 g Casein in 150 g Wasser.
9	3h 40′	12′ 29″	1430	3,305	2,588	47,27	37,01	0,783	38,06 37,96	112	
10	4h 10′	11′ 51″	1462	3,261	2,521	47,69	36,87	0,773	37,70 37,60	123	
11	4h 40′	11′ 58″	1439	3,252	2,460	46,81	35,41	0,756	37,70 37,80	115	
12	5h 10′	12′ 23″	1405	3,331	2,554	46,81	35,89	0,766	38,05 37,80	110	
13	5h 40′	12′ 09″	1445	3,278	2,551	47,38	36,87	0,778	38,32 38,40	109	

Tabelle VII.

Nummer der Versuchsreihe: 7. Körpergewicht: 7200 g.
Datum: 18. III. 1910.

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	11h 50′	6′ 58″	2608	2,288	1,860	59,67	48,51	0,813	38,47 38,78	68	
2	12h 04′	7′ 19″	2685	2,241	1,936	60,17	51,98	0,864	38,92 39,08	48	
3	12h 16′	6′ 39″	2669	2,246	1,872	59,95	49,96	0,833	39,20 39,38	55	
4	12h 43′	6′ 26″	2759	2,120	1,723	58,49	47,54	0,813	39,10 39,10	68	Von 12h 23′ bis 12h 26′ Nierenexstirpation.
5	12h 52′	6′ 25″	2722	2,007	1,662	54,63	45,24	0,828	39,00 38,90	65	
6	1h 16′	7′ 17″	2703	2,104	1,785	56,87	48,25	0,848	38,60 38,50	68	
7	2h 25′	6′ 06″	2848	2,104	1,785	59,92	50,84	0,848	38,92 39,00	85	2h 8′ mittels Magensonde 12 g Harnstoff in 110 ccm Wasser.
8	2h 51′	6′ 25″	2898	1,952	1,690	56,43	48,86	0,866	39,12 39,10	80	

Tabelle VIII.

Nummer der Versuchsreihe: 8. Körpergewicht: 6700 g.
Datum: 25. XI. 1910.

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	12^h 05'	11' 52''	1510	3,476	2,575	52,49	38,88	0,740	38,30 38,42	140	
2	12^h 30'	12' 02''	1498	3,644	2,665	54,59	39,93	0,731	38,50 38,45	138	
3	1^h 15'	12' 14''	1446	3,390	2,655	49,08	38,39	0,782	38,21 38,21	112	Um 1^h 00' Unterbindung d. Nierengefäße.
4	1^h 35'	12' 41''	1412	3,673	2,718	51,88	38,39	0,739	38,27 38,30	107	
5	1^h 55'	12' 21''	1417	3,578	2,832	50,69	40,12	0,791	38,30 38,38	108	
6	2^h 20'	12' 26''	1419	3,603	2,836	51,13	40,24	0,787	38,41 38,47	92	
7	3^h 15'	12' 39''	1411	3,379	2,942	47,67	41,51	0,870	37,93 38,02	115	Von 2^h 40' bis 3^h 10' Injektion v. 100 ccm 5%iger Harnstofflösung in die Vena jugul.
8	3^h 40'	12' 37''	1414	3,309	2,731	46,79	38,61	0,825	38,09 38,14	116	
9	4^h 00'	12' 11''	1445	3,331	2,614	48,14	37,77	0,784	38,28 38,39	108	
10	4^h 30'	12' 17''	1419	3,467	2,694	49,22	38,25	0,777	38,50 38,70	95	
11	5^h 00'	12' 23''	1472	3,729	2,847	54,90	41,92	0,763	38,80 38,88	93	

Tabelle IX.

Nummer der Versuchsreihe: 9. Körpergewicht: 6100 g.
Datum: 22. XI. 1910.

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10^h 45'	12' 21''	1397	3,806	3,125	53,16	43,69	0,821	38,50 38,70	128	
2	11^h 10'	12' 13''	1398	3,901	3,221	54,53	45,02	0,825	38,89 38,84	123	
3	11^h 45'	12' 15''	1412	3,680	3,162	51,96	44,65	0,859	38,50 38,45	124	

Tabelle IX (Fortsetzung).

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
4	12^h 35′	12′ 15″	1421	3,373	2,932	47,95	41,68	0,869	38,09 38,16	105	Um 12^h 15′ Unterbindung der Nierengefäße.
5	1^h 04′	12′ 33″	1394	3,390	2,930	47,27	40,86	0,864	38,29 38,39	100	
6	1^h 20′	12′ 19″	1389	3,317	2,926	46,09	40,65	0,882	38,45 38,54	115	
7	1^h 40′	12′ 20″	1398	3,363	2,881	47,01	40,28	0,856	38,60 38,62	118	
8	2^h 10′	12′ 12″	1404	3,165	2,798	44,46	39,30	0,884	38,35 38,33	130	Um 2^h mittels Magensonde 200 ccm 20%ige Dextroselösung (= 40 g Dextr.).
9	2^h 30′	12′ 33″	1386	3,237	2,806	44,86	38,89	0,866	38,35 38,39	123	
10	2^h 50′	12′ 27″	1391	3,265	2,897	45,41	40,29	0,887	38,30 38,35	125	
11	3^h 15′	12′ 35″	1375	3,208	2,868	44,10	39,43	0,893	38,30 38,28	124	
12	3^h 45′	12′ 24″	1378	3,302	2,774	45,50	38,23	0,840	38,29 38,36	109	
13	4^h 15′	12′ 46″	1348	3,339	2,871	45,03	38,72	0,859	38,34 38,34	106	

Tabelle X.

Nummer der Versuchsreihe: 10. Körpergewicht: 7000 g.
Datum: 29. XII. 1910.

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10^h 30′	7′ 56″	2312	2,536	2,426	58,65	56,10	0,956	38,10 38,10	140	Nierenexstirpation um 10^h.
2	10^h 55′	8′ 03″	2284	2,741	2,251	62,62	51,43	0,821	38,10 38,13	115	
3	11^h 15′	7′ 58″	2291	2,673	2,306	61,24	52,83	0,862	38,25 38,30	125	
4	11^h 35′	8′ 02″	2293	2,654	2,416	60,87	55,41	0,910	38,50 38,51	136	
5	12^h 25′	7′ 20″	2319	2,722	2,445	63,13	56,71	0,898	38,34 38,34	128	12^h 00′ mittels Magensonde 24 g Casein in 200 ccm Wasser.
6	12^h 50′	7′ 42″	2303	2,519	2,358	58,01	54,30	0,936	38,20 38,14	128	

Tabelle X (Fortsetzung).

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
7	1h 15′	7′ 27″	2296	2,640	2,300	60,62	52,82	0,871	38,14 38,09	128	
8	1h 40′	7′ 54″	2323	2,624	2,284	60,95	53,05	0,870	38,02 38,00	146	
9	2h 05′	7′ 51″	2298	2,595	2,159	59,64	49,62	0,831	38,00 37,99	145	
10	2h 30′	8′ 04″	2325	2,732	2,161	63,43	50,25	0,791	38,40 38,65	123	
11	2h 55′	8′ 04″	2338	2,728	2,159	63,80	50,49	0,791	38,90 38,92	143	
12	3h 25′	7′ 54″	2330	2,788	2,135	64,97	49,75	0,765	38,95 38,95	132	

Tabelle XI.

Nummer der Versuchsreihe: 11. Körpergewicht: 6900 g. Datum: 7. I. 1911.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	11h 20′	7′ 52″	2372	2,328	1,964	55,22	46,59	0,843	38,45 38,45	115	Nierenexstirpation um 10h.
2	11h 40′	8′ 05″	2361	2,393	1,894	56,50	44,72	0,791	38,45 38,45	110	
3	12h 00′	8′ 23″	2274	2,386	1,921	54,26	43,68	0,805	38,45	125	
4	12h 20′	8′ 24″	2295	2,351	1,924	53,96	44,16	0,818	38,40	120	
5	1h 00′	8′ 22″	2291	2,466	1,989	56,50	45,57	0,806	38,40	128	12h 35′ mittels Magensonde 24 g Casein, in 200 ccm Wasser suspendiert.
6	1h 25′	8′ 18″	2294	2,434	1,965	55,84	45,08	0,807	38,45	126	
7	1h 50′	8′ 11″	2298	2,377	1,859	54,62	42,62	0,782	38,10	125	
8	2h 20′	8′ 12″	2323	2,446	1,992	56,82	46,28	0,814	38,55 38,75	138	
9	2h 50′	8′ 23″	2308	2,415	1,878	55,74	43,34	0,777	38,95 38,90	68	
10	3h 20′	7′ 56″	2290	2,452	1,871	56,17	42,85	0,763	38,81	98	
11	3h 45′	7′ 10″	2330	2,335	1,880	54,49	43,87	0,805	38,70 38,64	95	
12	4h 10′	7′ 28″	2312	2,620	2,066	60,59	47,78	0,788	38,86 39,06	117	
13	4h 35′	7′ 21″	2323	2,450	1,898	56,93	44,10	0,774	39,31 39,21	95	
14	5h 00′	7′ 10″	2379	2,370	1,815	56,40	43,19	0,765	38,62 38,51	95	

Tabelle XII.

Nummer der Versuchsreihe: 12. Körpergewicht: 6200 g. Datum: 22.III.1910.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	11h 58′	9′ 18″	1938	2,071	1,826	40,14	33,76	0,841	38,58 38,81	60	
2	12h 14′	9′ 33″	1948	2,022	1,858	39,40	34,57	0,877	38,80 38,73	60	
3	12h 32′	8′ 51″	1977	1,921	1,732	37,99	32,59	0,858	38,51 38,42	43	
4	3h 00′	9′ 25″	1926	2,033	1,908	39,17	35,14	0,897	38,20 38,65	50	12h 50′ Nierenexstirpation, 2h 35′ mittels Magensonde 10 g Harnstoff in 100 ccm Wasser.
5	3h 19′	9′ 51″	1944	2,089	1,833	40,62	34,01	0,837	38,95 39,05	68	
6	4h 06′	9′ 07″	1967	2,064	1,751	40,61	32,79	0,808	38,70 38,60	50	
7	4h 55′	9′ 43″	1958	2,080	1,836	40,74	34,32	0,842	38,22 38,22	68	

Tabelle XIII.

Nummer der Versuchsreihe: 13. Körpergewicht: 4750 g. Datum: 29.III.1910.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	2h 56′	7′ 44″	2112	1,423	1,348	30,06	26,70	0,888	36,81 37,10	80	Nierenexstirpation vor Beginn des Versuchs.
2	3h 06′	8′ 23″	2054	1,571	1,417	32,28	27,39	0,848	37,26 37,53	95	
3	3h 19′	8′ 52″	2050	1,768	1,652	36,25	32,15	0,887	37,95 38,12	98	
4	3h 39′	8′ 31″	2116	1,631	1,435	34,52	28,59	0,828	38,10 38,02	68	
5	3h 53′	8′ 14″	2150	1,648	1,496	35,44	30,36	0,857	37,91 37,80	65	
6	4h 03′	8′ 10″	2153	1,581	1,498	34,05	30,45	0,894	37,80 37,62	88	
7	4h 33′	7′ 13″	2164	1,908	1,734	41,29	35,71	0,865	37,66 37,68	116	Von 4h 13′ bis 4h 42 intravenöse Injektion v. 100 ccm 5%iger Harnstofflösung.
8	4h 44′	7′ 53″	2173	2,084	1,637	45,30	33,75	0,745	37,69 37,78	128	
9	5h 27′	7′ 52″	2186	1,954	1,427	42,73	29,37	0,687	37,68 37,56	118	

Tabelle XIV.

Nummer der Versuchsreihe: 15. Körpergewicht: 4600 g.
Datum: 5. III. 1910.

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme (in der Ventilationsluft) %	CO_2-Zunahme (in der Ventilationsluft) %	O_2-Verbrauch (pro Minute) ccm	CO_2-Ausgabe (pro Minute) ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	11h 43'	8' 26''	2048	1,69	1,58	34,65	30,66	0,884	38,71 38,60	74	Unterbindung d. Nierengefäße vor Beginn des Versuchs.
2	12h 03'	8' 32''	2045	1,65	1,53	33,66	29,47	0,876	38,36 38,22	124	
3	12h 22'	8' 30''	2060	1,54	1,45	31,66	28,22	0,891	38,81 38,92	119	
4	12h 48'	8' 34''	2027	2,01	1,76	40,74	33,95	0,833	38,10 38,10	80	Von 12h 30' bis 1h 20' Injektion v. 115 ccm 5%-iger NaCl-Lösung in die Vena jugularis.
5	1h 06'	8' 51''	2018	2,17	1,70	43,71	32,61	0,746	38,36 38,40	138	
6	1h 25'	8' 51''	2038	2,28	1,73	46,43	33,55	0,723	38,63 39,00	—	

Tabelle XV.

Nummer der Versuchsreihe: 15. Körpergewicht: 5800 g.
Datum: 10. III. 1910.

Nr.	Anfang (des Versuchs)	Dauer (des Versuchs)	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme (in der Ventilationsluft) %	CO_2-Zunahme (in der Ventilationsluft) %	O_2-Verbrauch (pro Minute) ccm	CO_2-Ausgabe (pro Minute) ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
1	10h 46'	10' 15''	1739	2,63	2,13	45,65	35,59	0,780	38,09 38,00	Vor Beginn des Versuchs wurden beide Nieren exstirpiert.
2	11h 08'	10' 01''	1775	2,63	2,28	46,76	38,95	0,833	38,10 38,28	
3	10h 27'	10' 03''	1772	2,62	2,20	46,47	37,52	0,808	38,46 38,52	
4	12h 07'	10' 04''	1813	2,91	2,42	52,76	42,31	0,802	38,41 38,42	Von 11h 45' bis 12h 35' Injektion v. 145 ccm 5%iger NaCl-Lösung in die Vena jugularis.
5	12h 27'	10' 55''	1786	2,98	2,34	53,31	40,21	0,755	38,50 38,60	
6	1h 44'	9' 46''	1826	2,86	2,27	52,21	39,81	0,763	38,68 38,78	
7	4h 04'	10' 06''	1767	2,96	2,22	52,32	37,66	0,720	38,50 38,46	

Tabelle XVI.

Nummer der Versuchsreihe: 16. Körpergewicht: 5400 g.
Datum: 15. III. 1910.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	4h 47′	9′ 04″	1739	2,77	2,69	48,10	46,81	0,973	38,10 38,08	122	Vor Beginn des Versuchs wurden beide Nieren exstirpiert.
2	4h 58′	9′ 50″	1737	2,71	2,56	47,11	43,08	0,914	38,07 38,05	127	
3	5h 55′	10′ 50″	1752	3,33	3,02	58,36	51,49	0,882	37,85 38,13	122	Von 5h 15′ bis 5h 47′ Injektion v. 135 ccm 5%-iger NaCl-Lösung in die Vena jugularis.
4	6h 23′	10′ 06″	1717	3,18	2,94	54,63	49,00	0,897	38,63 38,80	—	
5	6h 52′	8′ 50″	1711	2,81	2,70	47,99	43,71	0,932	39,05 39,10	—	

Tabelle XVII.

Nummer der Versuchsreihe: 17. Körpergewicht: 5200 g.
Datum: 16. I. 1911.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	9h 50′	11′ 30″	1590	2,384	1,894	37,91	30,12	0,794	37,00	125	9h 40′ Unterbindung d. Nierengefäße.
2	10h 10′	11′ 33″	1593	2,248	1,806	35,81	28,77	0,803	36,80 36,65	132	
3	10h 30′	11′ 08″	1596	2,149	1,709	34,30	27,28	0,795	36,65 36,55	140	
4	11h 35′	10′ 41″	1605	2,041	1,662	32,76	26,67	0,800	36,98 37,05	132	
5	12h 15′	11′ 09″	1629	2,092	1,691	34,08	27,55	0,808	37,22 37,30	132	
6	12h 45′	11′ 16″	1640	2,213	1,734	36,30	28,44	0,783	37,40 37,45	136	
7	1h 15′	11′ 12″	1635	2,282	1,805	37,31	29,51	0,791	37,52 37,58	146	
8	1h 45′	11′ 10″	1628	2,263	1,751	36,85	28,51	0,773	37,70 37,70	108	
9	2h 25′	11′ 20″	1636	2,407	1,819	39,38	29,76	0,755	37,78 37,80	110	

Tabelle XVII (Fortsetzung).

Nr. des Versuchs	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
10	3h 00′	10′ 43″	1636	2,529	1,833	41,39	29,99	0,724	37,91 37,93	123	
11	3h 30′	11′ 13″	1642	2,514	1,813	41,29	29,78	0,721	37,93 37,96	125	
12	4h 00′	10′ 58″	1634	2,469	1,711	40,34	27,95	0,692	37,98 37,98	122	
13	4h 30′	10′ 37″	1677	2,351	1,821	39,44	30,55	0,774	37,91 37,91	118	
14	5h 00′	11′ 26″	1661	2,549	1,845	42,34	30,64	0,723	37,91	110	

Tabelle XVIII.

Nummer der Versuchsreihe: 18. Körpergewicht: 6900 g.
Datum: 3. II. 1911.

Nr. des Versuchs	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	11h 10′	11′ 28″	1676	3,149	2,698	52,79	45,23	0,856	39,00 39,22	127	10h 35′ Nierenexstirpation.
2	11h 50′	11′ 15″	1675	3,130	2,796	52,44	46,84	0,893	39,30 39,21	135	
3	12h 30′	11′ 19″	1671	3,170	2,670	52,96	44,61	0,842	38,95 38,86	136	
4	1h 10′	11′ 10″	1651	3,209	2,744	52,99	45,31	0,855	38,95 39,02	158	
5	1h 55′	11′ 15″	1652	3,290	2,749	54,37	45,43	0,835	39,10 39,06	165	
6	2h 40′	10′ 35″	1674	3,268	2,761	54,70	46,21	0,844	38,85 38,80	148	
7	4h 00′	11′ 11″	1651	3,327	2,583	54,92	42,64	0,776	39,10 39,20	130	
8	4h 45′	11′ 20″	1651	3,356	2,665	55,43	44,01	0,794	39,63 39,65	132	
9	5h 25′	11′ 10″	1671	3,434	2,573	57,40	43,01	0,749	39,40 39,21	122	
10	6h 05′	10′ 36″	1679	3,407	2,553	57,23	42,88	0,749	39,10 39,15	108	
11	7h 00′	10′ 34″	1657	3,551	2,563	58,86	42,48	0,721	39,30	104	

Die Wirkung intravenöser Kochsalzinfusionen auf den respiratorischen Gaswechsel.

Von

Fritz Verzár.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Die in vorstehender Arbeit des Herrn Prof. F. Tangl beschriebenen Versuche gaben die Veranlassung, die Wirkung intravenöser Kochsalzinfusionen auf den respiratorischen Gaswechsel weiter zu prüfen. In der angeführten Arbeit ist nur von der Wirkung des NaCl nach der Ausschaltung der Nieren die Rede. Nun sollte auf Anregung von Prof. F. Tangl durch weitere Versuche untersucht werden, wie die intravenöse Injektion bei erhaltener Nierenfunktion wirkt. Die Frage hat durch das „Kochsalzfieber" der Säuglinge, die in der pädiatrischen Literatur in letzter Zeit viel erörtert wurde, auch aktuelles Interesse. Zuntz war wohl der erste, der in seinen Versuchen mit Mering und dann mit Cohnstein, die Temperatur steigernde Wirkung der Kochsalzinjektionen konstatierte[1]).

Ich habe die aufgeworfene Frage mit Respirationsversuchen an curarisierten Hunden zu lösen gesucht. Nach dem, was

---

[1]) Zuntz u. Mering, Arch. f. d. ges. Physiol. 32. — J. Cohnstein u. Zuntz, Ibid. 42, 303.

F. Tangl in der vorstehenden Mitteilung über die Vorteile der Verwendung curarisierter Tiere anführt, ist es überflüssig, das dort Gesagte zu wiederholen. Ebenso kann ich auf die Beschreibung der Methodik und der Versuchsanordnung verzichten, da sie mit der von Tangl beschriebenen identisch war.

Nur bezüglich der NaCl-Infusion muß ich bemerken, daß die Lösung auf Körpertemperatur erwärmt aus einer Bürette langsam in die Vena jugularis gelassen wurde.

Durch in die Ureteren gebundene Kanülen, die mit einem graduierten Glasrohr in Verbindung waren, wurde (nicht in allen Versuchen) die Harnsekretion im Verlaufe des ganzen Versuchs kontrolliert. Die eine Carotis war mit einem Hürthleschen Manometer verbunden.

In den ersten drei Versuchen wurde NaCl in verschiedenen Konzentrationen (1%, 5%, 10%) injiziert (Versuchsreihe 1, 2, 3, Tabelle I bis III).

Tabelle I.

Nummer des Versuchstieres: 1. Körpergewicht: 7100 g. Datum: 28. II. 1910.

Nr. des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Harnausscheidung Zeit	Harnausscheidung ccm	Anmerkungen
1	2h 51′	7′ 25″	3354	1,58	1,37	53,16	43,14	0,811	37,21 37,27	94			
2	3h 06′	6′ 55″	3279	1,68	1,53	55,21	47,24	0,856	37,20 37,28	133			
3	3h 41′	7′ 22″	2937	1,88	1,70	55,16	47,34	0,858	37,46 37,48	150	4h 0′	0,0	
											5′	0,05	Von 4h 00′ bis 4h 50′ Infusion von 177 ccm 1%iger NaCl-Lösung
4	4h 10′	6′ 57″	3268	1,92	1,52	62,78	46,96	0,748	37,00 36,80	154	10′	0,05	
											15′	0,15	
5	4h 58′	6′ 37″	3399	1,76	1,35	59,72	43,10	0,722	36,95 36,95	140	20′	0,25	
											25′	0,15	
											30′	0,15	
											35′	0,30	
											40′	0,20	
											45′	0,0	Nach Beendigung d. Versuchs wird das Tier getötet. Die Sektion zeigt keine pathologischen Veränderungen.
											50′	0,0	

Tabelle II.

Nummer des Versuchstieres: 2. Körpergewicht: 5200 g. Datum: 21. II. 1910.

Nr. des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemwolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Harnausscheidung Zeit	Harnausscheidung ccm	Anmerkungen
1	9h 41′	8′ 24″	2208	2,29	1,93	50,46	40,65	0,806	37,80 37,75	125			
2	10h 08′	8′ 35″	2153	2,23	1,87	47,92	38,41	0,801	37,90 38,00	130			
3	10h 30′	8′ 35″	2259	2,21	1,88	49,89	40,43	0,812	38,35 38,40	124			
4	10h 55′	8′ 14″	2182	2,71	2,13	59,06	44,66	0,756	37,90 37,95	146	10h 40′ 45′	0 0,2	Von 10h 40′ bis 11h 35′ Infusion von 130 ccm 5%iger NaCl-Lösung.
5	11h 18′	7′ 37″	2268	2,62	2,11	59,34	46,02	0,776	38,20 38,15	87	50′ 55′	1,5 0,7	
6	11h 36′	8′ 32″	2234	3,16	2,40	70,65	51,71	0,732	38,10 38,60	184	11h 0′ 5′	2,5 8,6	
											10′	13,0	Die Temperatur des Tieres steigt, ohne daß irgendeine Veränderung d. Temperatur der Umgebung vorgenommen wurde.
											15′	12,0	
											20′	20,6	
											25′	20,5	
											30′	35,0	
											35′	27,0	
											40′	23,0	
											45′	15,0	
											50′	14,5	
											Zusammen	194,1	

Wie man sieht, ist in allen drei Versuchen eine durchaus **typische und sehr bedeutende Steigerung des O_2-Verbrauchs zu konstatieren.**

Die Erhöhung des O_2-Verbrauchs hängt von der Menge und Konzentration der injizierten NaCl-Lösung bzw. von der Menge des zugeführten Kochsalzes ab.

Mit der Konzentration der eingespritzten Lösung steigt der O-Verbrauch ganz gewaltig, wie die Zusammenstellung auf Seite 45 zeigt.

Bei der 10%igen Lösung, die allerdings auch schon schwere anatomische Läsionen (ausgedehnte Hämorrhagien in den Gedärmen) bewirkt, erreicht der Mehrverbrauch von O_2 pro Minute den kolossalen Wert von 129%!

Diese bedeutende Steigerung des Gaswechsels ist der unzweideutige Beweis der entsprechenden Steigerung des Energie-

Tabelle III.

Nummer des Versuchstieres: 3. Körpergewicht: 5650 g. Datum: 21. II. 1910.

Nr. des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minuten ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Harnausscheidung Zeit	Harnausscheidung ccm	Anmerkungen
1	3h 50′	9′ 05″	2058	1,88	1,55	38,66	30,12	0,779	39.50 39,11	91			
2	4h 07′	8′ 43″	2091	1,79	1,57	37,46	31,05	0,829	39,23 39,50	70			
3	4h 24′	8′ 24″	2072	1,81	1,56	37,39	30,54	0,816	39,20 39,00	67	4h 35′	0	
											40′	0	Von 4h 40′ bis 5h 30′ Infusion von 140 ccm 10%iger NaCl-Lösung.
4	4h 44′	7′ 58″	2167	2,46	2,42	53,32	52,39	0,983	38,90 38,20	118	50′	0,2	
											55′	0,8	
5	5h 16′	8′ 00″	2257	3,77	2,87	85,14	62,76	0,737	39,45 40,20	164	5h 0′	2,0	
											5′	7,7	Die Temperatur steigt schnell, ohne daß die Außentemperatur irgendwie verändert wurde.
6	5h 30′	8′ 12″	2176	3,63	2,73	79,03	59,49	0,753	40,40 40,80	171	10′	7,3	
											15′	3,2	
											20′	3,0	
											25′	3,8	
											30′	2,4	
											35′	0,1	
											40′	0,7	
											45′	0,9	Nach Beendigung des Versuchs wird das Tier durch Verbluten getötet.
											Zusammen	32,1	Sektion: In der Bauchhöhle blutig seröse Flüssigkeit. Im Magen ca. 200 ccm gallige Flüssigkeit. Die Därme sind mit Flüssigkeit gefüllt. In d. Schleimhaut diffuse Hämorrhagien. Nieren und Pankreas hämorrhagisch. Unterhautzellgewebe sehr ödematös.

umsatzes, also der Wärmeproduktion, die in meinen Versuchen durch die eintretende Erhöhung der Körpertemperatur zum Ausdruck kam, — besonders in den Versuchen mit der 5%igen und 10%igen Lösung. Trotzdem die Tiere im Thermostaten lagen, dessen Temperatur ganz unverändert blieb, stieg die Körpertemperatur nach der NaCl-Infusion, besonders stark bei der 10%igen Lösung. Also ein typischer Fall von Kochsalzfieber beim Hunde! Ich möchte es nicht unbemerkt lassen, daß die Steigerung des O_2-Verbrauchs keinesfalls etwa die Folge der erhöhten Körpertemperatur sein kann, denn erstens geht

sie dieser voran und zweitens ist letztere lange nicht hoch genug, um eine solche Steigerung zu bewirken. (Bekanntlich entsprechen einer um 1° C höheren Temperatur etwa 5 % O_2-Mehrverbrauch.)

Nummer der Versuchsreihe	Konzentration der NaCl-Lösung %	Injiziertes NaCl g	Injiziertes NaCl pro 1 kg und 1 Min. g	Maximale Steigerung des O_2-Verbrauchs %
1	1	1,77	0,005	22,5
2	5	6,50	0,0227	42,97
3	10	14,00	0,0469	129,00

Die produzierte Kohlensäure bleibt im 1. Versuch (1 % NaCl) gleich oder sinkt vielleicht später ein wenig. Im 2. (5 %) und 3. (10 %) Versuch steigt sie ebenfalls beträchtlich, jedoch nicht so stark wie der Sauerstoffverbrauch. Hierdurch wird ein Sinken des respiratorischen Quotienten bewirkt, das in allen Versuchen sehr deutlich ist.

Versuch	Konzentration der NaCl-Lösung	Respiratorischer Quotient vor der Injektion	Respiratorischer Quotient nach der Injektion
	%	Mittelwert	niedrigster Wert
1	1	0,842	0,722
2	5	0,806	0,732
3	10	0,805	0,737

(Nur in Versuch 3 stieg vorübergehend der respiratorische Quotient.)

In drei weiteren (4, 5 und 6) Versuchsreihen wurde physiologische Kochsalzlösung intravenös injiziert. Dabei wurden zweimal (Versuch 4 und 5) unmittelbar vor der Infusion dem Tiere Blut entnommen, um einer Überladung des Organismus mit Flüssigkeit vorzubeugen.

Auch in diesen Versuchen ist als Wirkung der Injektion eine Zunahme des O_2-Verbrauchs zu bemerken, die allerdings, der geringeren Konzentration der injizierten Lösung und der kleineren Menge des injizierten NaCl entsprechend, bedeutend geringer ist. Die bedeutendste Steigerung ist in der Versuchsreihe 4 zu bemerken. In der Versuchsreihe 6 fällt die kurz dauernde Steigerung noch innerhalb der Fehlergrenzen; allerdings wurde in dieser Versuchsreihe die Injektion sehr langsam vor-

Tabelle IV.

Nummer des Versuchstieres: 4. Körpergewicht: 7267 g.
Datum: 15. XI. 1909.

Nr.	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10h 25′	10′ 30″	1842	2,81	2,23	51,78	39,46	0,762	37,97 38,06	156	
2	11h 10′	8′ 12″	2064	2,83	2,41	58,37	47,91	0,821	38,14 38,18	175	
3	11h 41′	7′ 02″	2348	2,53	2,12	59,41	47,74	0,804	38,28 38,23	166	
4	12h 50′	7′ 29″	2348	2,93	2,26	68,78	51,15	0,744	38,32 38,41	138	12h 02′ 80 ccm Blutentnahme. Von 12h 02′ bis 12h 43′ Infus. von 150 ccm 0,75 %iger NaCl.
5	1h 45′	7′ 01″	2421	2,54	2,13	61,41	49,59	0,808	39,02 39,06	152	
6	2h 53′	7′ 34″	2418	2,70	2,17	65,22	50,35	0,772	38,50 38,44	151	
7	4h 13′	7′ 25″	2430	2,84	2,25	68,94	52,51	0,762	38,55 38,58	133	

Tabelle V.

Nummer des Versuchstieres: 5. Körpergewicht: 4100 g.
Datum: 17. XI. 1909.

Nr.	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Arterieller Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10h 13′	14′ 52″	1311	2,55	2,02	33,49	25,33	0,756	39,03 39,04	145	
2	10h 35′	13′ 34″	1300	2,60	1,94	33,88	24,16	0,714	39,01 38,66	145	
3	11h 16′	12′ 36″	1379	2,22	1,79	30,60	23,46	0,767	38,39 38,39	142	
4	11h 34′	13′ 16″	1315	2,64	1,99	34,72	25,09	0,723	38,39 38,48	157	
5	12h 10′	13′ 36″	1344	2,52	1,96	33,92	25,17	0,742	38,18 38,14	163	11h 54′ Blutentnahme (65ccm) aus der Carotis. Von 11h 54′ bis 12h 38′ Infus. von 150,5 ccm 0,75 %iger NaCl.
6	12h 44′	12′ 57″	1296	2,80	2,17	36,23	26,99	0,744	38,13 38,26	178	
7	1h 32′	15′ 18″	1154	3,07	2,28	35,49	25,40	0,716	38,38 38,43	162	
8	2h 55′	12′ 16″	1294	2,64	2,00	34,19	24,85	0,727	38,44 38,46	163	
9	4h 55′	14′ 18″	1268	2,59	2,13	32,87	25,98	0,790	38,56 38,59	159	
10	5h 14′	14′ 03″	1315	2,51	1,95	32,98	24,56	0,745	38,76 38,73	164	

Tabelle VI.

Nummer des Versuchstieres: 6. Körpergewicht: 6600 g.

Datum: 13. I. 1910.

Nr. des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft	O_2-Verbrauch pro Minute	CO_2-Ausgabe pro Minute	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers.	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen
			ccm	%	%	ccm	ccm		°C	Hg mm	
1	10h 36'	8' 25"	2227	2,56	2,40	56,89	51,48	0,905	38,29 38,26	182	
2	10h 58'	7' 10"	2238	2,58	2,33	57,76	50,28	0,871	38,24 38,23	173	
3	11h 16'	7' 02"	2286	2,42	2,78	55,21	50,09	0,907	38,36 38,46	166	
4	11h 34'	8' 34"	2252	2,49	2,19	56,14	47,40	0,844	38,60 38,63	145	
5	12h 11'	7' 26"	2265	2,47	2,28	55,86	49,68	0,889	38,59 38,41	138	Von 11h 44' bis 12h 50' Infus. von 186 ccm 0,75 %igeNaCl-Lösung.
6	1h 00'	7' 41"	2266	2,55	2,13	57,66	46,29	0,803	38,25 38,50	161	
7	2h 21'	8' 09"	2203	2,39	2,01	52,71	42,42	0,805	38,50 38,46	131	
8	3h 15'	8' 31"	2150	2,56	2,21	55,03	45,78	0,832	38,30 38,45	155	
9	4h 21'	7' 47"	2232	2,55	2,11	56,80	45,19	0,796	38,40 38,25	139	

genommen: sie dauerte 66 Minuten, in den anderen dagegen nur 41 bzw. 44 Minuten.

Es kann also schon die intravenöse Infusion einer 0,75 %igen Kochsalzlösung zu einer Erhöhung des O_2-Verbrauchs führen.

Diese Wirkung wird man natürlich bei allen Versuchen, in denen die Wirkung einer in physiologischer Kochsalzlösung gelösten Substanz auf den respiratorischen Gaswechsel geprüft werden soll, zu berücksichtigen haben.

Meine Versuche haben demnach ergeben, daß das Kochsalz bei intravenöser Injektion den Gaswechsel, also den Energieumsatz, bedeutend zu erhöhen vermag, und zwar erhöht es viel mehr den O_2-Verbrauch als die CO_2-Produktion, wodurch es zu einer Abnahme des respiratorischen Quotienten kommt.

Meine Versuche bestätigen die in den Steckschen Versuchen beobachtete Wirkung des NaCl.[1]) Übrigens haben bereits Zuntz und Mering[2]) bei einem Kaninchen, dem sie 20 ccm einer 10%igen Kochsalzlösung in die Vena jugularis injizierten, eine Steigerung des O_2-Verbrauchs konstatiert. Sie dachten dabei an eine durch Vermehrung der zirkulierenden Flüssigkeit verursachte Steigerung der Herzarbeit und Nierentätigkeit.

Die in der vorstehenden Arbeit von F. Tangl beschriebenen Versuche haben bereits bewiesen, daß das NaCl auch ohne Nierentätigkeit den O_2-Verbrauch bedeutend zu erhöhen vermag. So wie in Tangls Versuchen war auch bei den meinigen die Pulszahl und der Blutdruck nicht immer gestiegen, wenn der O_2-Verbrauch zunahm.

Natürlich kann die Herzarbeit trotzdem erhöht gewesen sein und zwar durch die Volumvermehrung der zirkulierenden Flüssigkeit. Damit dürfte aber die bedeutende Zunahme des O_2-Verbrauchs in meinen Versuchen kaum erklärt werden. So ist z. B. in der Versuchsreihe 4, in der vor der NaCl-Infusion 80 ccm Blut aus der Carotis entnommen wurden, die Erhöhung des O_2-Verbrauches viel bedeutender wie in der Versuchsreihe 6, in der nicht nur vorher kein Blut aus der Ader gelassen wurde, sondern auch mehr NaCl-Lösung infundiert wurde. Ceteris paribus muß aber in letzter Versuchsreihe die Herzarbeit größer gewesen sein. Würde es sich nur um die Erhöhung der Herzarbeit handeln, müßte die Steigerung des O_2-Verbrauches in der Versuchsreihe 6, in der 186 ccm NaCl-Lösung infundiert wurden, eigentlich größer sein als in der Versuchsreihe 1, in der einem größeren Tiere 177 ccm infundiert wurden. Tatsächlich war aber hier die Steigerung eine viel bedeutendere. — Dazu kommt noch, daß bei der 1% und 5%igen NaCl die Steigerung des O_2-Verbrauchs bereits kurze Zeit nach dem Beginn der Infusion einsetzt, also zu einer Zeit, wo erst ein Teil der Lösung infundiert war. Weiterhin könnte selbst die Ver-

---

[1]) N. Zuntz, Verdauungsarbeit und spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsmittel. Medizinische Klinik, Januar 1910.

[2]) Zuntz und Mering, Inwiefern beeinflußt Nahrungszufuhr die tierischen Oxydationsprozesse. Arch. f. d. ges. Physiol. 32, 5, 178.

doppelung der Herzarbeit nicht eine Zunahme des O_2-Versuchs selbst nur um 22% verursachen.[1])

Schließlich kann die Steigerung der Diurese allein nicht zur Erklärung der bedeutenden Erhöhung des O_2-Verbrauches herangezogen werden, denn in Versuchsreihe 3 war der O_2-Verbrauch kurz nach Beginn der Infusion der 10%igen NaCl-Lösung schon im Versuche 4 gewaltig gesteigert, wo die Diurese noch nicht so stark war.

Es bleibt demnach nichts übrig, als auch in meinen Versuchen, in denen außerdem auch noch eine Resorptionsarbeit ausgeschlossen war, in der Erhöhung des O_2-Verbrauchs eine direkte Wirkung des NaCl auf den Stoffwechsel der verschiedenen Organe, eine „spezifisch dynamische Wirkung" (Rubner) zu erblicken. Daß diese Wirkung wahrscheinlich nicht nur in der Beschleunigung der Reaktion, sondern in einer qualitativen Veränderung besteht, dafür spricht auch das Verhalten der CO_2-Ausgabe, die nach NaCl-Injektion — mit oder ohne Ausschaltung der Nieren — gar nicht oder weniger gesteigert ist als der O_2-Verbrauch. Da die Ventilation in diesen Versuchen gleich blieb, so kann man auch darauf schließen, daß die CO_2-Ausgabe mit der CO_2-Produktion parallel ging.

Im Vergleich mit den Versuchen F. Tangls, in denen der NaCl-Injektion die Ausschaltung der Nieren voranging, war die Erhöhung des O_2-Verbrauchs in meinen Versuchen größer. Allerdings kann nur die Versuchsreihe, in der eine 5%ige NaCl-Lösung injiziert wurde, zum Vergleich herangezogen werden, da in F. Tangls Versuchen diese Lösung verwendet wurde. Die maximale Steigerung war in Tangls Versuchen 39%, während bei meinem Versuch (mit 5%iger NaCl-Lösung) 43%. Dieser Unterschied ließe sich damit erklären, daß in meinen Versuchen außer der allgemeinen Steigerung des O_2-Verbrauchs in den übrigen Organen auch noch besonders die Nieren zu erhöhter Diurese angeregt wurden, was nach den Versuchen von Barcroft[2]) und Brodie zu einer weiteren Erhöhung des O_2-Ver-

[1]) Nach Zuntz — laut einer brieflichen Mitteilung an Herrn Prof. F. Tangl — bedeutet Verdoppelung der Herzarbeit eine Zunahme des Energiebedarfs um ca. 6%.

[2]) I. Barcroft, Zur Lehre vom Blutgaswechsel in den verschiedenen Organen. Ergebn. d. Physiol. 1908, 699.

brauchs führt. Es fällt also höchstens ein kleinerer Bruchteil der Erhöhung des O_2-Verbrauchs auf vermehrte Nierentätigkeit — keinesfalls aber der ganze oder auch nur der größere Teil.

Außer der Frage, in welchen Organen das NaCl die Erhöhung des O_2-Verbrauchs bewirkt, ist auch die Frage von großem Interesse, welche Stoffe an diesem vermehrten O_2-Verbrauch beteiligt sind. Meine Versuche lassen beide Fragen unbeantwortet. Immerhin möchte ich schon jetzt auf einen Umstand hinweisen, der möglicherweise mit der Abnahme des respiratorischen Quotienten zusammenhängt und diese erklärt.

Kochsalzinfusion kann einen starken Diabetes hervorrufen, wie es Bock und Hoffmann[1]) bewiesen haben. Sie haben große Mengen einer $1^0/_0$igen Kochsalzlösung Kaninchen infundiert und hierbei erschien regelmäßig, nachdem die Diurese schon einige Zeit gedauert hatte, Zucker im Urin. Wurde sehr viel Flüssigkeit infundiert und wieder ausgeschieden, so verschwand endlich der Zucker wieder. Bei diesen Tieren war dann die Leber ganz frei von Zucker und Glykogen!

M. H. Fischer[2]) sah schon 5 bis 6 Minuten nach der Einspritzung von 25 bis 30 ccm einer $^1/_2$ bis $^1/_1$ mol. NaCl-Lösung eine 2 bis 8 Stunden lang dauernde Glucosurie.

Endlich ist I. Br. Mac Callum[3]) zu erwähnen, der nach Injektion einer $^1/_8$ bis $^1/_6$ mol. NaCl-Lösung auch Zuckerausscheidung in den Darm sah. In meinem Versuch Nr. 3 ($10^0/_0$ige NaCl-Infusion) fand sich im Darmrohr eine große Flüssigkeitsmenge.

Leider wurde es versäumt, in meinen Versuchen den Harn auf Zucker zu untersuchen. Sollten aber weitere Versuche tatsächlich ergeben, daß bei intravenöser NaCl-Injektion stets Zucker ausgeschieden resp. in erhöhter Menge aus Eiweiß oder Fett gebildet wird, so würde damit die Abnahme des respira-

---

[1]) Bock und Hoffmann, Über eine neue Entstehungsweise von Melliturie. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1871, 550.

[2]) M. H. Fischer, Weitere Versuche über die Hervorrufung und Hemmung von Glucosurie bei Kaninchen durch Salze. Arch. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. 106, 80.

[3]) I. Br. Mac Callum, Ausscheidung von Zucker in den Darm, hervorgerufen durch intravenöse Salzinfusion. Univ. of Californ. Public. Physiol. 1, 123, zit. in Maly, Jahrb. f. Tierchemie 1904.

torischen Quotienten gut erklärt werden können. Freilich müßte dieser Zucker im Organismus auf Kochsalzwirkung nicht mehr verbrannt, sondern unausgenützt ausgeschieden werden.

Selbst in diesem Falle könnte man aber die außerordentliche Zunahme des O_2-Verbrauchs nur mit der weiteren Annahme verständlich machen, daß die Zuckerbildung aus Fett oder Eiweiß sehr bedeutend ist, so daß dann größere Quantitäten von Zucker durch Nieren und Darm ausgeschieden werden müßten.

An eine vermehrte Eiweißverbrennung als Kochsalzwirkung, wie sie früher behauptet wurde, kann nach den neueren Untersuchungen des N-Stoffwechsels nicht mehr gedacht werden [v. Noorden[1])].

[1]) C. v. Noorden, Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels. — Magnus-Levy, 1, 449. — Dapper u. v. Noorden, Der Einfluß der Mineralwässer auf den Stoffwechsel 2, 506.

Die Größe der Leberarbeit.

Von

Fritz Verzár.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest. Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Nach demselben Prinzipe und mit derselben Versuchsanordnung, die Prof. F. Tangl zur Messung der Nierenarbeit angewendet hat, versuchte ich auf seine Anregung und unter seiner Leitung die Größe der Leberarbeit zu bestimmen.

Die Ausschaltungsmethode läßt sich aber bei der Leber nicht so leicht anwenden wie bei den Nieren.

Unterbindet man die Aorta und die Vena cava inf., wie es Bohr und Henriquez machten, so werden nicht nur die Leber und die Bauchorgane zum großen Teil aus dem Kreislaufe geschaltet, sondern auch so tiefgreifende Störungen im Blutkreislauf verursacht, daß der Ausfall im Gaswechsel nicht als Maß der Leberarbeit oder des Einflusses der Leber auf den Gaswechsel betrachtet werden kann.

Neuestens hat V. Scaffidi[1]) an Enten die Veränderungen des Gaswechsels untersucht, die nach Ausschaltung des Leberkreislaufes eintreten. Bekanntlich läßt sich bei Vögeln die Vena portae ohne eine Ecksche Fistel unterbinden, da der portorenale (Jacobsonsche) Blutkreislauf letztere ersetzt. Diese besonderen anatomischen Einrichtungen bringen es aber auch wahrscheinlich mit sich, daß nach Unterbindung der Vena portae bei Vögeln der Stoffwechsel ganz andere Veränderungen erleidet wie beim Säugetier. Scaffidi hat nämlich den ganz

---

[1]) V. Scaffidi, Über die Veränderung des Gasstoffwechsels nach Ausschaltung des Leberkreislaufs. Diese Zeitschr. 14, 156, 1908.

sonderbaren Befund erhoben, daß bei Enten nach Unterbindung der V. portae der Gaswechsel nicht unbedeutend ansteigt. Wenn auch gegen die Methodik Scaffidis mancher berechtigter Einwand erhoben werden kann, so zeigen seine Versuche doch wenigstens so viel, daß man mittels dieser Ausschaltung bei Vögeln nichts über die Größe der Leberarbeit erfahren kann. Ich habe daher meine Versuche an Säugetieren ausgeführt.

Die vollständige Ausschaltung der Leber bietet nicht geringe Schwierigkeiten. Ich habe von vornherein auf eine vollständige Ausschaltung verzichtet und mich auf die Ausschaltung des Portalkreislaufs beschränkt. Da bekannterweise der Portalkreislauf mit den Funktionen der Leber in engster Verbindung steht, so konnte ich mit Recht annehmen, daß die Ausschaltung dieses Kreislaufes fast gleichbedeutend ist mit der Ausschaltung der Leberfunktionen oder wenigstens gleichbedeutend mit ihrer Reduktion auf ein Minimum. Wahrscheinlich bleibt ja ein Teil der Funktionen bestehen, da auch nach der Ausschaltung des Portalkreislaufes die Leber noch von der Art. hepatica aus mit Blut versorgt wird.

Ich habe die Leber aus dem Portalkreislauf nach der Methode von Queirolo[1]) ausgeschaltet, die vor der Eckschen den Vorteil hat, daß sie einfacher und schneller ausführbar ist.

Die Vena cava inf. wird bei der Zweiteilung in die Vv. iliacae unterbunden und ebenso die V. portae bei ihrem Eintritt in die Leberpforte. Von beiden Venen werden längere Stücke freipräpariert. Die Vena portae wird dann durchschnitten, das periphere (darmwärts gelegene) Stück durch eine kurze weite Glaskanüle durchgezogen, umgestülpt, die Vena cava inf. durchschnitten und der zentrale Stumpf auf den umgestülpten Teil der V. portae gezogen. Es berührt sich also Intima mit Intima, und wenn die Aderklemmen abgenommen werden, so beginnt sogleich die Zirkulation, ohne daß Thrombose eintreten würde.

Die ziemlich schwierige Operation gelingt leichter an großen Hunden; ich habe stets solche genommen. Da diese in unserem

[1]) Queirolo, Atti del XI. Congr. med. internat. 3, 1894.

Thermostaten nicht untergebracht werden konnten, so wurden sie auf einen elektrisch heizbaren Tisch aufgebunden, auf dem sie während des ganzen Versuches verblieben. Die Körpertemperatur der curarisierten Tiere ließ sich da ganz gut fast konstant erhalten.

Eine Beschreibung der Versuchseinrichtung ist überflüssig, da dieselbe, wie schon erwähnt, mit der von F. Tangl beschriebenen identisch ist. Ich verweise auf seine Mitteilung, in der auch ausführlich begründet ist, weshalb die Ausschaltungsversuche an curarisierten Tieren ausgeführt wurden. (Dieses Heft, S. 1 bis 9.)

Wie aus den Versuchsprotokollen ersichtlich, halten die Tiere diesen Eingriff verschieden lange aus. Einige habe ich nach Beendigung des Versuchs getötet, andere gingen während oder gleich nach Beendigung des Versuches ein.

Ich habe im ganzen 5 Versuchsreihen ausgeführt, deren Ergebnisse in den Tabellen I bis V zusammengestellt sind. Aus denselben ist auch ersichtlich, in wieviel Versuchen und zu welcher Zeit nach der Ausschaltung des Portalkreislaufes der Gaswechsel bestimmt wurde.

In den Tabellen sind die Versuche, die vor der Ausschaltung der Leber gemacht wurden, durch einen größeren Zwischenraum von denjenigen getrennt, die ich nach der Ausschaltung ausführte. Die ganze Queirolosche Operation nahm kaum mehr als $^3/_4$ Stunden in Anspruch, so daß von dem Beginn des letzten Versuches vor der Ausschaltung bis zu dem des ersten nach der Ausschaltung 1 bis $1^1/_4$ Stunden verstrichen.

Um die Veränderung des Gaswechsels übersichtlich zu zeigen, habe ich aus den Versuchen vor und nach der Ausschaltung die Mittelwerte berechnet und dann die Differenz zwischen diesen ermittelt. Diese Mittelwerte sind in der folgenden Tabelle VI enthalten. Die in Prozenten angegebenen Differenzen beziehen sich auf den Mittelwert vor der Ausschaltung.

Die Versuche beweisen, daß nach der Ausschaltung der Leber aus dem Portalkreislaufe sowohl der O_2-Verbrauch als auch die CO_2-Produktion sinkt.

Tabelle I.

Versuchsreihe 1. Nummer des Versuchstieres: 38. Körpergewicht: 11800 g.
Datum: 14. III. 1910.

Nr.	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10h 16′	9′ 20″	3574,4	2,06	1,92	73,49	65,55	0,892	39,17 38,92	106	
2	10h 33′	9′ 8″	3458,5	2,22	1,97	76,88	65,19	0,848	38,96 39,22	117	
3	10h 46′	9′ 23″	3523,9	2,12	1,91	74,85	64,28	0,859	39,30 38,98	119	Zwisch. Versuch 3 und 4 Ausschaltung der Leber.
4	12h 3′	9′ 15″	3516,7	1,92	1,94	67,52	65,34	0,968	39,00 39,01	97	
5	12h 32′	9′ 21″	3530,8	1,99	1,93	70,40	65,25	0,927	38,73 39,00	165	
6	12h 44′	9′ 13″	3587,5	1,80	1,80	64,50	61,45	0,953	39,38 39,81	100	

Tabelle II.

Versuchsreihe 2. Nummer des Versuchstieres: 26. Körpergewicht: 12200 g.
Datum: 10. II. 1910.

Nr.	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
1	10h 39′	5′ 24″	4258,9	2,28	2,07	96,89	84,75	0,874	39,0 39,0	
2	11h 4′	7′ 35″	4206,7	2,42	2,12	101,80	85,56	0,841	39,10 39,10	
3	11h 25′	7′ 58″	4169,8	2,38	2,03	99,16	84,56	0,853	39,10 39,10	
4	11h 45′	7′ 20″	4244,3	2,47	2,08	104,96	84,63	0,806	39,12 39,15	Zwisch. Versuch 4 u. 5 Ausschaltung der Leber.
5	12h 42′	7′ 51″	4232,6	1,91	1,70	80,67	68,57	0,856	39,00 39,05	
6	1h 10′	7′ 25″	4269,9	2,09	1,85	89,11	78,78	0,884	39,13 39,20	
7	1h 43′	7′ 45″	4156,2	2,13	1,95	88,32	77,39	0,876	39,40 39,46	

Tabelle III.

Versuchsreihe 3. Nummer des Versuchstieres: 43. Körpergewicht: 26400 g. Datum: 21. III. 1910.

Nr. des Versuchs	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	11h 5′	7′ 41″	7535,7	2,78	2,39	209,34	179,95	0,860	38,57 38,60	123	
2	11h 35′	7′ 1″	7801,0	2,76	2,41	214,92	181,06	0,842	38,73 38,75	122	Zwisch. Vers. 2 u. 3 Ausschaltung der Leber.
3	1h 4′	7′ 20″	7738,5	2,42	2,20	187,19	169,86	0,907	38,70 38,72	74	Zwisch. Vers. 3 u. 4 Infusion der Stärkelösung.
4	2h 0′	7′ 56″	7628,8	2,53	2,59	192,70	191,41	0,993	38,18 38,21	111	
5	2h 42′	7′ 56″	7634,2	2,48	2,51	189,56	185,56	0,979	38,72 38,70	78	
6	3h 7′	7′ 50″	7477,3	2,65	2,45	198,22	176,69	0,891	38,23 38,23	73	Zwisch. Vers. 6 u. 7 Infusion der Traubenzuckerlösung.
7	3h 45′	7′ 36″	7461,3	2,68	2,76	199,96	199,81	0,999	37,89 38,18	84	
8	4h 10′	7′ 55″	7635,8	2,54	2,54	194,18	187,46	0,965	39,14 39,20	78	Bei d. Obduktion fanden sich in der Blase 30 ccm Urin ohne Zuck. oder Amylum.

Tabelle IV.

Versuchsreihe 4. Nummer des Versuchstieres: 41. Körpergewicht: 20000 g. Datum: 17. III. 1910.

Nr. des Versuchs	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10h 38′	9′ 6″	3267,0	4,80	3,68	156,69	117,45	0,750	38,11 38,40	179	
2	11h 00′	9′ 26″	3289,0	5,12	3,94	168,27	126,90	0,754	38,23 38,50	197	
3	11h 17′	6′ 49″	4517,0	3,66	3,16	165,19	138,90	0,841	38,49 38,30	147	
4	11h 30′	7′ 39″	4422,0	3,86	2,93	170,82	125,81	0,736	38,10 38,18	148	Zwisch. Vers. 4 u. 5 Ausschaltung der Leber.

Tabelle IV (Fortsetzung).

Nr.	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
5	12h 54′	7′ 12″	4496,0	3,38	2,97	151,96	129,89	0,855	38,76 38,71	116	
6	1h 14′	6′ 52″	4467,0	2,84	2,73	126,64	118,38	0,934	38,35 38,30	67	
7	1h 25′	7′ 28″	4434,0	2,93	2,85	129,92	122,73	0,945	38,58 38,61	80	
8	1h 37′	7′ 33″	4415,0	3,15	2,87	139,12	123,13	0,885	38,51 —	85	Zwisch. Vers. 8 u. 9 Infusion der Traubenzuckerlösung.
9	2h 14′	7′ 10″	4419,0	2,94	3,06	129,96	131,33	1,010	39,32 39,00	55	
10	2h 40′	7′ 1″	4439,0	2,69	2,96	119,19	127,62	1,071	38,31 38,41	52	
11	2h 59′	7′ 23″	4451,0	2,75	2,78	122,18	119,95	0,982	38,42 38,12	—	

Tabelle V.

Nummer des Versuchstieres: 33. Körpergewicht: 16500 g.
Datum: 1. III. 1910.

Nr.	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10h 33′	7′ 46″	5743,7	1,84	1,71	105,68	93,45	0,884	39,20 39,12	87	
2	11h 00′	8′ 12″	5088,6	2,01	1,84	102,38	89,36	0,872	39,09 39,18	105	
3	11h 20′	8′ 26″	5184,8	1,95	1,87	(?) 100,90	92,55	0,917	39,23 39,31	100	Zwisch. Vers. 3 u. 4 Ausschaltung der Leber. [1])
4	12h 26′	8′ 6″	5268,8	1,78	1,62	93,68	81,09	0,866	39,90 39,98	101	
5	12h 39′	9′ 12″	5233,6	1,90	1,65	99,38	81,91	0,824	40,02 40,00	—	
6	12h 55′	8′ 23″	4896,1	1,83	1,73	89,54	80,49	0,898	39,97 39,90	137	

[1]) Die V. cava inf. teilte sich schon vor Abgang der Vv. renales in 2 Vv. iliacae. Hierdurch war es möglich, die V. portae mit einer V. iliaca distal von der V. renalis zu verbinden. Die Zirkulation im Gebiete der V. portae sistierte höchstens 5 Minuten. Die Därme konnten sehr geschont werden.

Tabelle V (Fortsetzung).

Nr. des Versuchs	Anfang des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
7	1h 9′	8′ 22″	5225,1	1,90	1,72	99,02	85,27	0,861	39,90 39,80	136	Zwisch. Vers. 7 u. 8 Infusion der Stärkelösung.
8	1h 39′	8′ 49″	5187,2	1,97	1,84	102,24	90,93	0,890	39,59 39,50	123	
9	2h 22′	8′ 27″	5256,7	2,11	2,03	111,20	106,78	0,960	39,32 39,41	—	
10	2h 55′	8′ 4″	5242,1	1,75	1,69	91,89	83,98	0,914	39,76 39,84	—	Nach d. Infusion d. Stärkelösung entleerte der Hund bis zum Schluß dieser Versuchsreihe 37 ccm Harn, enthalt. 0,8 % = 0,25 g Dextrose.
11	3h 45′	8′ 30″	5152,0	1,77	1,73	91,09	85,01	0,933	39,42 39,32	—	

Tabelle VI.

Mittelwerte.

Nummer der Versuchsreihe	CO_2-Produktion pro Minute: vor der Ausschaltung der Leber ccm	nach der Ausschaltung der Leber ccm	Veränderung ccm	Veränderung %	O_2-Verbrauch pro Minute: vor der Ausschaltung der Leber ccm	nach der Ausschaltung der Leber ccm	Veränderung ccm	Veränderung %	$\frac{CO_2}{O_2}$ vor der Ausschaltung der Leber	$\frac{CO_2}{O_2}$ nach der Ausschaltung der Leber
1	65,01	64,01	— 1,00	— 1,54	75,07	67,47	— 7,60	— 11,24	0,866	0,949
2	84,88	71,58	— 13,30	— 15,67	100,70	86,03	— 14,67	— 14,57	0,843	0,872
3	180,51	169,86	— 10,65	— 5,91	212,13	187,19	— 24,94	— 11,76	0,851	0,907
4	127,26	123,53	— 3,73	— 2,93	165,24	136,90	— 28,34	— 17,15	0,770	0,905
5	91,79	82,19	— 9,60	— 10,46	102,78	95,40	— 7,38	— 7,18	0,891	0,862
Mittel:				— 7,30				— 12,38		

Das war auch zu erwarten und steht im Widerspruch mit den Versuchsergebnissen V. Scaffidis[1]). Sc. hat bei Enten nach Unterbindung der Portalvene stets eine nicht unbedeutende Zunahme des O_2-Verbrauches und der CO_2-Produktion gefunden. Dieses ganz verschiedene Verhalten kann nur in den verschiedenen anatomischen Verhältnissen seine Erklärung finden.

---

[1]) Scaffidi, l. c.

Jedenfalls dürfte bei Enten die Unterbindung der Pfortader zu keiner solchen fast vollständigen Ausschaltung der Leberfunktion führen wie bei Säugetieren. Ich möchte auf eine weitere Diskussion vorderhand nicht eingehen und behalte mir dieselbe bis zu der Zeit vor, wo ich durch weitere Versuche an Enten einen tieferen Einblick in die Frage gewonnen haben werde.

Hält man sich an den O_2-Verbrauch, als zuverlässigeres Maß des Energieumsatzes — also der geleisteten Arbeit —, so entspricht die Abnahme des O_2-Verbrauches dem Ausfall im Energieumsatze, nach den Ausführungen Tangls (s. diesen Band, S. 9) annähernd der Leberarbeit. Im Mittel der 5 Versuche beträgt der Ausfall im O_2-Verbrauche 12,4% des Wertes vor der Ausschaltung der Leber, d. h. von dem gesamten Energieumsatze des Organismus — dessen Muskulatur durch Curare gelähmt ist —, fallen etwa 12% auf die Leber, mit anderen Worten, die Leberarbeit macht etwa 12% der gesamten energetischen Leistung des Organismus aus. Die Größe dieses Wertes tritt uns erst dann deutlich vor die Augen, wenn wir ihn mit dem relativen — auf das Körpergewicht bezogenen — Gewichte der Leber vergleichen. Leider habe ich es versäumt, das Gewicht der Leber meiner Hunde zu bestimmen. Nach Pavy beträgt das Gewicht der Leber bei mit Fleisch gefütterten Hunden 3,3% ihres Körpergewichtes[1]). Die auf Gewichtseinheit bezogene Arbeit der Leber ist demnach etwa das 4fache der auf die Gewichtseinheit bezogenen Arbeit des ganzen Organismus.

Nun müssen wir aber bei dem Einwerten der in meinen Versuchen ermittelten Leberarbeit zwei Momente berücksichtigen. Das eine gilt nicht nur für die Leber, sondern auch für die anderen Organe, deren Arbeit an nüchternen Tieren mittels der Ausschaltungsmethode bestimmt wird. Die Versuchstiere haben nämlich in allen meinen Versuchen 24 bis 36 Stunden vor dem ersten Versuche gehungert, die Leberfunktionen waren also reduziert, jedenfalls war der Energieumsatz in der Leber nicht unbedeutend geringer als während oder kurze Zeit nach der Verdauung. Dementsprechend mußte die Ausschaltung der

---

[1]) Zit. nach Weinland in Nagels Handb. d. Physiol. 2.

Leber einen geringeren Ausfall ergeben, als wenn ich sie in voller Funktion ausgeschaltet hätte. Es ist meiner Ansicht nach sicher zu erwarten, daß in letzterem Falle der Ausfall 12 % überstiegen hätte; wir können also diesen Wert nur als einen der minimalen Leberarbeit nahestehenden ansehen.

Ich gedenke diese Frage durch weitere Versuche aufzuklären. Der gefundene Wert ist aber auch aus einem anderen Grunde zu klein: ich habe nämlich die Leber nur aus dem Portalkreislauf ausgeschaltet — nicht aber aus dem Gebiete der Art. hepatica. Wenn auch unstreitbar die Pfortader den allergrößten Teil der zur Leberarbeit nötigen chemischen Energie liefert, so dürfte doch auch, besonders wenn die Pfortader ausgeschaltet ist, die Leberarterie bis zu einem gewissen Grade vikariierend eintreten, mit anderen Worten, die Leberzellen können eine gewisse, wenn auch sehr geringe Arbeit selbst dann noch verrichten, wenn die Pfortader ausgeschaltet ist.

Andererseits entspricht der von mir ermittelte Wert nicht nur dem Gaswechsel der Leber selbst, sondern enthält auch den Anteil, den die Leber durch Hormone in anderen Organen anregt (s. Tangl, diesen Band, S. 3 u. 4).

Eine interessante Erscheinung, die als Folge der Ausschaltung der Leber in meinen Versuchen zur Beobachtung kam, ist die Erhöhung des respiratorischen Quotienten, die in 4 Versuchen (von 5) zum Teil recht bedeutend ist. Die Erhöhung kommt dadurch zustande, daß nach der Ausschaltung der Ausfall im O_2-Verbrauch meist bedeutend größer ist, als in der CO_2-Produktion: der O_2-Verbrauch sank durchschnittlich (Mittel der 5 Versuche) um 12,4 %, die CO_2-Ausscheidung um 7,3 %.

Diese Erhöhung des $\frac{CO_2}{O_2}$-Quotienten ist nicht eindeutig und ich finde in meinen Versuchen keine Anhaltspunkte für die Richtigkeit der einen oder der anderen Deutung. Es könnte der respiratorische Quotient des ausgeschalteten Organes ein sehr niedriger gewesen sein, in welchem Falle die Ausschaltung dieses Organes aus dem Gaswechsel zu einer Erhöhung des respiratorischen Quotienten führen muß. Andererseits könnte der Quotient $\frac{CO_2}{O_2}$ dadurch erhöht werden, daß nach Ausschaltung der Leber relativ mehr Kohlenhydrate verbrennen, weil kein Glykogen

gebildet wird. Auch darf nicht vergessen werden, daß ein Teil der ausgeschiedenen CO_2 seine Entstehung nicht oxydativen Prozessen verdankt, und möglicherweise werden diese anoxybiotischen Vorgänge durch die Ausschaltung der Leber weniger beeinflußt. Und schließlich, was ganz besonders betont werden muß, ist es nicht ausgeschlossen, daß durch den Eingriff, mit dem die Ausschaltung der Leber bewirkt wird, eine Stauung, bzw. Verlangsamung der Blutzirkulation erzeugt wird, die zu einer unvollständigen CO_2-Abgabe aus dem Blute führt. (Das könnte allerdings durch weitere Versuche leicht entschieden werden.)

Jedenfalls ist bei der Erklärung der Erhöhung des respiratorischen Quotienten aus den erwähnten Gründen Vorsicht geboten. Diese Vorsicht ist natürlich bei einer Versuchsanordnung, wie sie O. Porges[1]) angewendet hat, noch mehr geboten. O. Porges unterband in seinen Versuchen die Aorta, die Vena cava inferior samt den Lebervenen unmittelbar am Durchtritt durch das Zwerchfell und außerdem noch die Pfortader. Nur ein Teil der operierten Tiere überlebte diese Operation so lange, als es für die Versuchsdauer notwendig war. Bedenkt man weiterhin, daß O. Porges in keinem seiner Versuche den Gaswechsel vor der Unterbindung bestimmte und überhaupt auch gar nicht die absolute Größe des O_2-Verbrauches und der CO_2-Ausscheidung ermittelte, auch nichts über die Größe der Lungenventilation angibt, sondern bloß die prozentische Zusammensetzung der Atemprobe analytisch feststellte: so dürften seine Versuche trotz der Kontrollversuche, die übrigens — wenigstens nach der kurzen Beschreibung — auch nicht einwandfrei sind, kaum eine genügende Basis für die Folgerung abgeben, daß in seinen Versuchen aus der Erhöhung des $\frac{CO_2}{O_2}$ nach Ausschaltung der Abdominalorgane eine Umbildung von Eiweiß und Fett zu Kohlenhydrat in der Leber angenommen werden kann.

Auch Scaffidi hat in seinen bereits erwähnten Versuchen eine Erhöhung des $\frac{CO_2}{O_2}$-Quotienten gefunden, die er auf eine

---

[1]) Porges, Über d. resp. Quot. nach Ausschaltung d. Abdominalorgane. Diese Zeitschr. 27, 131.

größere Verbrennung von Kohlenhydraten zurückführt. Der Quotient $\frac{CO_2}{O_2}$ überstieg in einigen Versuchen die Einheit, woraus Sc. den Schluß zieht, daß ein Teil der Kohlenhydrate, die nicht mehr die Regulation durch die Leber erfahren, sehr wahrscheinlich in Fett umgewandelt wird.

Ich möchte an dieser Stelle auf keine weitere kritische Erörterung der Versuchsergebnisse und Folgerungen von O. Porges und V. Scaffidi eingehen, da ich meine Erfahrungen durch weitere Versuche an Tieren in verschiedenen Stadien der Verdauung ergänzen möchte, ohne die keine entscheidende Diskussion dieser Frage möglich ist. Auch müßten, um über die komplizierten Vorgänge nach der Unterbindung der Pfortader bei Vögeln Aufklärung zu erhalten, eingehendere Stoffwechseluntersuchungen ausgeführt werden. Nur von solchen ist eine sichere Deutung der Veränderungen des Gaswechsels zu erwarten.

Ist die Tätigkeit der Leber zur Kohlenhydratverbrennung unerläßlich?

Von
Fritz Verzár.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Im Anschlusse an die in der voranstehenden Arbeit mitgeteilten Versuche trat ich auch der Frage näher, ob die Kohlenhydrate im Organismus auch dann oxydiert werden können, wenn die Leber ausgeschaltet ist. Damit findet natürlich auch die Frage eine Antwort, ob die Glykogenbildung in der Leber eine Vorbedingung der Verwertung der Kohlenhydrate bei den oxybiotischen Prozessen ist.

Zu diesem Zwecke habe ich in dreien der vorstehend beschriebenen Versuche, nach Beendigung der Respirationsversuche, die ich nach der Ausschaltung der Leber mittels der Queiroloschen Operation ausführte, eine 3%ige, mit physiologischer Kochsalzlösung bereitete Stärke-, bzw. 10%ige wässerige Dextroselösung in die Vena jugularis injiziert. Ich ließ die Lösung langsam aus einer Bürette in die Vene fließen und setzte dann die Respirationsversuche in derselben Weise fort. In einem Versuche (Nr. 3) wurde zuerst eine Stärkelösung und dann die Dextroselösung injiziert. Selbstverständlich wurde in jeder Versuchsreihe bis zum Schlusse des letzten Respirationsversuchs durch fortgesetzte Curareinjektionen für die Erhaltung der Muskelruhe gesorgt. Die Ergebnisse der Versuche sind in den Tabellen III bis V der vorstehenden Mitteilung enthalten (S. 56 u. 57).

In beiden Versuchen, in denen Stärkelösung injiziert wurde, stieg nach der Injektion sowohl der O_2-Verbrauch als

auch die CO_2-Produktion, doch stieg die CO_2-Produktion stärker. Nach der Traubenzuckerinjektion sank in beiden Versuchen der O_2-Verbrauch, während die CO_2-Produktion stieg. Zieht man aus den Versuchen vor und nach der Injektion Mittelwerte, so ergibt sich, daß

nach der Stärkeinjektion

	in Versuch 3	in Versuch 5
der O_2-Verbrauch	um + 3,4%	+ 3,9%
die CO_2-Ausgabe	„ + 8,7%	+ 11,2%

nach der Dextroseinjektion

	in Versuch 3	in Versuch 4
der O_2-Verbrauch	um — 0,7%	— 9,2%
die CO_2-Ausgabe	„ + 9,7%	+ 2,6%

sich veränderte.

Dementsprechend stieg in allen Versuchen der respiratorische Quotient!

Als Mittelwerte für $\frac{CO_2}{O_2}$ vor und nach der Injektion erhält man

	in Versuch 3	in Versuch 5
vor der Stärkeinjektion	0,907	0,862
nach der „	0,954	0,924

	in Versuch 3	in Versuch 4
vor der Dextroseinjektion . . .	0,907[1])	0,905
nach der „ . . .	0,932	1,021

Das Verhalten von $\frac{CO_2}{O_2}$, dessen Erhöhung wie aus den Versuchen unzweideutig hervorgeht, auf der Erhöhung der CO_2-Produktion beruht, macht es zweifellos, daß die injizierte Stärke bzw. Dextrose verbrannt wurden. Dem entspricht auch das Verhalten des O_2-Verbrauches, der nach der Stärkeinjektion nur mäßig anstieg, nach der Dextroseinjektion hingegen zurückging. Die geringe Zunahme nach der Stärkeinjektion dürfte durch das NaCl bedingt sein, in dessen Lösung die Stärke injiziert wurde. (S. meine Arbeit über die Wirkung des NaCl auf den Gaswechsel. Dieses Heft s. S. 47.)

[1]) Mittelwerte vor der Stärkeinjektion.

Es haben demnach meine Versuche ergeben, daß auch nach der Ausschaltung der Leber aus dem Portalkreislaufe Kohlenhydrate im Organismus bis zu den Endprodukten verbrannt werden können. Allerdings muß ich die Bemerkung wiederholen, daß in meinen Versuchen die Leber eigentlich nicht ganz ausgeschaltet war, da die Art. hepatica noch immer der Leber Blut zuführen konnte. Es ist aber bekannt, daß diese Blutzufuhr zu den Funktionen der Leber nicht genügt und daß gerade das Portalvenenblut das zu den Verrichtungen der Leber nötige Material liefert.

Unentschieden lassen meine Versuche die Frage, ob die Kohlenhydrate ohne Leber in demselben Maße verbrannt werden können wie mit Leber. Dazu müßte die Menge des unverbrannt ausgeschiedenen Zuckers und die möglicherweise in den Muskeln als Glykogen deponierte Kohlenhydratmenge bestimmt werden. In einem Versuche fand ich im ausgeschiedenen Harne keinen Zucker, im andern konnte ich Zuckerausscheidung nachweisen. Bemerkenswert bleibt es jedenfalls, daß auch die in das Blut injizierte Stärke ohne Mitwirkung der Leber verbrannt werden kann.

Meine Versuche berechtigen auch zu dem Schlusse, daß die Verbrennung der Kohlenhydrate im Organismus nicht an die Bedingung gebunden ist, daß sie vorher in der Leber in Glykogen verwandelt werden.

Parenteraler Stärkestoffwechsel.

Von

Fritz Verzár.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

I.

Es war das allgemeine Interesse, das in der letzteren Zeit der parenteralen Ernährung gewidmet wurde, was mich dazu führte, die Wirkung von intravenösen Stärkeinjektionen zu studieren. Es mußte von Interesse sein, einen Körper direkt ins Blut zu bringen, der dort sonst nie vorkommt, wohl aber bei enteraler Ernährung einer der häufigsten Nährstoffe ist. Gerade bei der Stärke sind wir wohl am besten über die Rolle und den Mechanismus der Darmverdauung unterrichtet.

Die unaufsaugbare, kolloidale, nicht diffusible Stärke wird, um transportabel, d. h. diffusionsfähig zu werden, im Darm zu gut löslichem Zucker hydrolysiert. Was geschieht nun, wenn ein Polysaccharid, z. B. nicht hydrolysierte Stärke, in die Blutbahn gelangt?

Über intravenöse Stärkeinjektionen liegen nur sehr spärliche Daten vor. Die älteren wenigen Versuche von Claude Bernard[1]), der nach Injektion von Stärke sowohl diese, als auch Zucker im Urin von Kaninchen vorfand, sowie ähnliche Versuche von Magendie[2]) und anderen waren dem einzigen

[1]) Claude Bernard, Leçons sur le diabete. 1877, 553; zitiert nach Wohlgemuth: Untersuchungen über Diastasen. III. Diese Zeitschr. 21, 381.

[2]) Magendie, Compt. rend. 23, 189, 1846; zitiert nach Wohlgemuth, l. c.

Autor, der sich in letzter Zeit mit dieser Frage befaßte, Moscati[1]), unbekannt. Letzterer injizierte Hunden Stärke und konnte weder diese noch Zucker in irgendeinem Sekret finden; er sah sich zu der Auffassung gedrängt, die Stärke werde von verschiedenen Organen in höchst verschiedenem Maße adsorbiert und dann langsam in Glykogen umgewandelt. Es wird sich im Laufe der folgenden Zeilen öfters die Gelegenheit bieten, auf Moscatis Versuche näher einzugehen. Zu erwähnen sind noch Versuche von Mendel und Mitchel[2]), die nach intraperitonealer Injektion von löslicher Stärke bei einem Hunde 7%, bei einem Kaninchen 30% im Urin wiederfanden. Endlich möchte ich noch der Versuche von Jappeli[3]) gedenken, der ein Disaccharid (Rohrzucker) intravenös injizierte und zu dem Ergebnis gelangte, derselbe werde unverändert von der Leber aufgestapelt, langsam ins Blut und von hier in den Darm ausgeschieden und von hier invertiert wieder aufgesaugt!

II.

Vor allem untersuchte ich, ob es möglich ist, erheblichere Mengen von Stärke Tieren intravenös zu injizieren und ob dieselbe als solche wieder ausgeschieden wird. Nach Claude Bernard sollte die Kaninchenniere für Stärke durchgängig sein, nach Moscati die Hundeniere nicht. Es würden also Unterschiede zwischen den beiden Tierspezies bestehen.

Ich versuchte anfangs eine möglichst große Stärkemenge zu injizieren, um gleichzeitig auch einen bemerkbaren Einfluß auf den Stoffwechsel zu erhalten. Deshalb injizierte ich eine Aufschwemmung von Stärkemehl in Kochsalzlösung. Über die negativen Ergebnisse dieser Versuche werde ich am Ende dieser Arbeit berichten. Nachdem es nicht möglich war, eine Stärke-

---

[1]) Moscati, Über das Verhalten der in den Organismus eingeführten Stärkelösung. Ablagerung der Stärke und Umwandlung in Glykogen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 73.

[2]) Mendel und Mitchel, Über die Ausnützung verschiedener Kohlenhydrate ohne Mitwirkung der Verdauungsprozesse. Americ. Journ. of Physiol. 14, 239.

[3]) Jappeli, Noch etwas über das Schicksal des Rohrzuckers im tierischen Organismus. Atti del R. Accad. Med. Chirurg. di Napoli 58, 272; zitiert nach Maly, Jahrb. f. Tierchemie, 1905.

emulsion zu injizieren, nahm ich „Stärkelösungen", und zwar, weil gewöhnliche Stärke sich kaum bis zu $^1/_2$ % löst, verwendete ich Amylum solubile (Kahlbaum), das Lösungen bis zu etwa 5 % gibt. Am günstigsten, besonders am haltbarsten fand ich die 3 %ige Lösung in physiologischer Kochsalzlösung. Die meisten Versuche wurden mit dieser Lösung ausgeführt.

In folgendem sind diese Versuche kurz beschrieben.

Versuch 1.

8. II. 1910: Kaninchen, 3500 g.

Bekommt in die Vena jugularis im Verlaufe von 10 Minuten 100 ccm 3 %iges Amylum solubile. Bald nach Beginn der Injektion uriniert es. Der Urin gibt starke Jod-Stärkereaktion. Ebenso auch der Urin nach Beendigung der Injektion.

Versuch 2.

26. I. 1910: Kaninchen, 3000 g.

Bekommt in die Vena jugularis im Verlauf vom 100 Minuten 100 ccm 3 %iges Amylum solubile. Der Harn enthält, weder sofort nach Beginn der Injektion noch später, Stärke oder Dextrin, reduziert jedoch etwas stärker als normal (Zucker).

Versuch 3.

26. I. 1910: Hund, 4200 g. Äthernarkose.

Bekommt in die Vena jugularis im Verlaufe von 25 Minuten 250 ccm 3 %iges Amylum solubile. Nach der Injektion viel Stärke im Urin.

Versuch 4.

21. X. 1909: Hund Nr. 3, 4750 g. Curarisiert.

Bekommt in die Vena jugularis im Verlaufe von 150 Minuten 78,5 ccm 3 %iges Amylum solubile. Im nachher entleerten Harn 1,145 g Zucker, jedoch keine Stärke.

Versuch 5.

30. X. 1909: Hund Nr. 6, 3200 g. Curarisiert.

Bekommt im Verlaufe von 76 Minuten 104 ccm 3 %iges Amylum solubile in die Vena jugularis. Im Urin keine Stärke, kein Dextrin, kein Zucker.

Wie man aus diesen Versuchen, denen noch mehrere ähnliche zur Seite stehen, ersieht, ist sowohl die Niere des Kaninchens (Vers. 1), als die des Hundes (Vers. 3) für gelöste Stärke permeabel. Andererseits aber ist es auch möglich, dieselben und auch noch größere Stärkemengen in die Blutbahn zu bringen, ohne daß die Stärke im Urin erscheint (Vers. 2, 5). Hierzu ist es nur nötig, die Stärke entsprechend langsam zu injizieren.

Manchmal kann es dabei wohl vorkommen, daß zwar keine Stärke, jedoch Zucker im Harn erscheint (Vers. 4), in den meisten Versuchen jedoch keines von beiden. Die Frage nach der Permeabilität der Nieren für Stärke ist also dahin zu beantworten, daß, wenn die Stärke im Blute eine gewisse Konzentration erreicht — was bei schneller Injektion der Fall ist — dieselbe im Harn erscheint, bei langsamer Injektion jedoch gar nicht, auch nicht als Zucker ausgeschieden wird. Zwischen Hund und Kaninchen besteht in dieser Beziehung kein Unterschied. Ich kann mir Moscatis negative Ergebnisse nur so erklären, daß er nie so schnell injiziert hat, daß die Stärke im Blute die entsprechende Konzentration erreichte. Leider gibt er seine Methodik nicht ausführlich an.

III.

Was geschieht nun mit der in die Blutbahn gelangten Stärke? Da schon nach der Injektion von einigen Kubikzentimetern Stärkelösung, wenn die Injektion schnell geschah, Stärke im Harn erschien, mußte angenommen werden, daß die Stärke schon ausgeschieden wird, wenn sie eine sehr geringe Konzentration im Blute erreicht. Daraus folgte andererseits, daß, wenn bei entsprechend langsamer Injektion es zu keiner Stärkeausscheidung kam, eben in diesen Fällen die Stärke Zeit hatte, aus dem Blute zu verschwinden. Das war leicht zu beweisen. In den Versuchen, bei denen Stärke so langsam infundiert wurde, daß sie nicht im Harne erschien, war auch niemals eine Stärkereaktion (Jod) des Serums zu sehen, weder während, noch nach vollendeter Injektion, trotzdem — wie Kontollversuche ergaben — entsprechend verdünnte Stärkelösung deutliche Blaufärbung zeigte. Noch besser konnte aber das Schicksal der Stärkelösung kontrolliert werden, indem die Viscosität des Blutes bestimmt wurde vor und während der Injektion einer Stärkelösung von größerer Viscosität als die des Blutes, die also die Viscosität des Blutes erhöhen mußte. Nun nahm aber nach solchen Injektionen die Viscosität des Blutes nicht zu, sondern ab, es mußte also die Stärke aus dem Blute gleich verschwunden sein, so daß das Blut nun einfach durch die mitinjizierte Kochsalzlösung ver-

dünnt wurde. Ganz Ähnliches fand G. B. Zanda[1]), der nach intravenöser Injektion von konzentrierten viscosen Zuckerlösungen häufig keine Zunahme der Viscosität des Blutes sah, da der Zucker sogleich aus dem Blut verschwindet.

Zur Illustration führe ich folgenden Versuch an:

Hund, 6000 g, Morphiumnarkose.

Injektion von 3%igem Amylum solubile in 0,75%iger NaCl.

Durchlaufszeit der Lösung durch das Viscosimeter 58,5 Sek.

Blutentnahme aus der Carotis, zu jeder Viscositätsbestimmung 4 bis 5 ccm. Das Blut wurde mit Ammoniumoxalat (1:1000) behandelt.

3 Uhr 30 Min. Normales Blut	Durchlaufszeit im Viscosimeter 45,9 Sek.	Jodreaktion im Serum
3 Uhr 30 Min. bis 4 Uhr 15 Min. Injektion in die Vena jugularis von 150 ccm aus der obigen Stärkelösung		
4 Uhr 15 Min.	43,0 Sek.	negativ
4 „ 45 „	43,3 „	negativ
5 „ 50 „	42,7 „	negativ

IV.

Was geschieht mit der aus dem Blute verschwindenden Stärke? Damit sind wir auch zur Hauptfrage gelangt: Wird direkt ins Blut gebrachte Stärke im Stoffwechsel verwertet? Um hierüber Aufklärung zu erhalten, habe ich Respirationsversuche ausgeführt. Wird nämlich die injizierte Stärke verbrannt, so mußte das an der Erhöhung der respiratorischen Quotienten erkannt werden können.

Es war von großer Wichtigkeit, die Versuche so einzurichten, daß möglichst alle störenden Momente, die die Größe des Gaswechsels beeinflussen konnten, ausgeschlossen werden. Es mußten also vor allem die willkürlichen Muskelbewegungen, die in ganz unkontrollierbarer Weise und bei jedem Tiere in verschiedenem Maße den Gaswechsel erhöhen, vermieden werden, was durch das Curare leicht zu erreichen war.

Ich habe dementsprechend bei diesen Respirationsversuchen genau dieselbe Methodik und dieselben Einrichtungen benutzt, die Prof. F. Tangl in seiner vorstehenden Mitteilung über die Arbeit der Nieren (s. S. 7) ausführlich beschreibt. Auch die

[1]) Zanda, Giorn. della R. Accad. di Med. di Torino 70, 120.

Tabelle I.

Versuchsreihe 6. Hund. Gewicht 7620 g. Datum: 26. X. 1909.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft: O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft: CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat.-Quotient	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10h 23′	7′ 11″	3036,0	38,44 38,47	2,24	1,84	67,86	53,31	0,786	176	
2	10h 58′	7′ 6″	2951,4	38,46 38,43	2,28	1,91	67,35	54,01	0,802	179	Die Ventilation wird nach Versuch 2 vergrößert.
3	12h 49′	9′ 13″	3253,4	38,86 38,96	2,14	1,83	69,75	56,80	0,814	184	Um 12h 18′ werden aus der Carotis 100 ccm Blut entnommen. Von 12h 35′ bis 3h 2′ Infusion von 100 ccm 3%iger Amyl. solub.-Lösung in die Vena jugul.
4	1h 15′	9′ 23″	3264,3	38,87 38,89	1,99	1,81	63,82	55,98	0,877	146	
5	1h 58′	9′ 50″	3206,8	38,85 38,83	2,02	1,78	64,71	54,36	0,839	156	
6	3h 3′	9′ 45″	3250,7	38,86 38,86	1,92	1,67	62,38	51,65	0,828	98	
7	4h 0′	9′ 29″	3139,4	38,74 38,83	2,10	1,78	65,96	53,31	0,808	118	
8	5h 5′	9′ 30″	3155,0	39,06 39,08	2,01	1,61	63,29	50,76	0,807	—	Nach Beendigung des Vers. 10 wird das Tier getötet. Leber zur Darstellung des Glykogens nach Pflüger verwendet.
9	6h 5′	8′ 13″	3138,9	38,78 38,70	2,03	1,67	63,75	49,85	0,782	—	
10	7h 6′	9′ 48″	3150,2	38,81 38,86	2,06	1,54	65,02	48,58	0,747	—	

Anordnung meiner Versuche war die gleiche, so daß eine Wiederholung der Beschreibung überflüssig ist.

Ergänzend sei nur erwähnt, daß in beiden Vv. jugulares Kanülen eingebunden waren. Mit der Kanüle der linken V. jugularis wurde mittels eines Kautschukschlauches die in Kubikzentimeter geteilte 10 ccm fassende, mit 1%iger Curarelösung gefüllte Spritze verbunden, mit der Kanüle der rechten V. jugularis eine Bürette, die auf Körpertemperatur vorgewärmte Stärkelösung enthielt. Die Temperatur der Stärkelösung erhielten wir dadurch konstant, daß die Bürette wasserdicht in einen weitern Glaszylinder eingesetzt war, durch den warmes Wasser floß. Aus der Bürette ließ ich dann langsam die Stärkelösung in die Vene fließen. Die Geschwindigkeit wählte ich nach meinen früheren Erfahrungen so, daß im Harne möglichst keine Stärke ausgeschieden wurde. Das wurde in der Weise kontrolliert, daß

Tabelle II.

Versuchsreihe 7. Hund. Gewicht 3500 g. Datum: 30. X. 1909.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft: O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft: CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat.-Quotient	Anmerkungen
1	11h 1′	10′ 49″	2144,5	39,52 39,48	1,58	1,30	33,99	25,99	0,765	
2	11h 31′	10′ 16″	2143,1	39,45 39,44	1,547	1,23	33,15	24,54	0,740	
3	12h 48′	9′ 27″	2188,1	39,61 39,50	1,49	1,23	32,69	24,94	0,763	12h 20′ Aus der A. carotis wird 48 ccm Blut entnommen.
4	1h 9′	12′ 5″	2017,1	39,46 39,43	1,69	1,46	34,17	27,80	0,813	Von 12h 39′ bis 1h 55′ Infusion von 104 ccm einer 3 %igen Stärkelösung in die Vena-jugul.
5	1h 42′	10′ 30″	2174,7	39,25 39,29	1,60	1,43	34,75	29,23	0,841	
6	2h 35′	10′ 47″	2126,8	39,34 39,79	1,54	1,47	32,71	29,56	0,904	Um 4h 37′ stirbt das Tier.

ich in die Harnblase ein Katheter einführte und den ausfließenden Harn auf Stärke und Zucker untersuchte. Es sei gleich hier bemerkt, daß in allen Versuchen, bei denen bezüglich des Harnes in den Tabellen nichts angegeben ist, weder Stärke noch Zucker im Harne nachgewiesen werden konnte.

In einigen Versuchen (s. Tab. I bis IV) habe ich, um einer Überladung des Gefäßsystems mit Flüssigkeit vorzubeugen, vor der Injektion der Stärkelösung 22 bis 37 % des Blutes aus der Carotis entnommen.

Die Dauer eines jeden Respirationsversuches war etwa 10 Minuten. Den ersten (vor der Stärkeinjektion) begann ich erst, nachdem das Tier bereits 15 Minuten nach Beendigung aller Vorbereitungen im zugedeckten Thermostaten ungestört ventiliert wurde.

Vorerst wurden vor der Stärkeinjektion 2 bis 4 Grundversuche gemacht, zur Ermittelung des Gaswechsels des curarisierten nüchternen Tieres (36 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme). Aus den Werten dieser Grundversuche wurden Mittelwerte für den O_2-Verbrauch und die CO_2-Produktion berechnet, die also den Nüchternwerten des curarisierten Tieres entsprechen.

Tabelle III.

Versuchsreihe 8. Hund. Gewicht 3500 g. Datum: 3. XI. 1909.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft: O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft: CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat.-Quotient	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10^h 49′	20′ 8″	1440,7	38,41 38,26	2,13	1,67	30,65	23,12	0,785	123	
2	11^h 15′	12′ 00″	1478,4	38,21 38,12	2,12	1,69	31,31	23,74	0,758	122	
3	11^h 37′	11′ 17″	1453,0	38,03 37,96	2,20	1,74	31,98	24,08	0,753	126	
4	11^h 59′	11′ 24″	1529,5	38,06 38,11	2,12	1,77	32,38	24,90	0,794	127	
5	12^h 38′	11′ 30″	1621,0	37,80	1,77	1,60	28,69	24,54	0,855	64	12^h 20′. Aus der A. carotis werden 60 ccm Blut entnommen.
6	1^h 9′	11′ 14″	1594,1	37,50 37,73	2,00	1,61	31,83	24,37	0,766	43	Von 12^h 24′ bis 1^h 29 Infusion von 100 ccm, von 2^h 19′ bis 3^h 4′ von weiteren 50 ccm einer 3%igen Stärkelösung in die Vena jugul.
7	1^h 28′	10′ 44″	1589,4	38,30 38,72	2,12	1,94	33,63	29,44	0,855	50	
8	2^h 1′	10′ 58″	1539,1	38,71 38,65	2,19	1,97	33,71	29,07	0,873	53	
9	2^h 55′	9′ 45″	1599,9	38,36 38,32	2,09	1,98	33,44	30,27	0,905	—	Die Registrierung des Blutdrucks fehlt.
10	4^h 13′	11′ 57″	1515,3	38,14 38,13	2,21	2,03	33,50	29,50	0,881	—	do.
11	5^h 4′	11′ 5″	1570,7	38,23 38,30	2,15	1,88	32,79	28,26	0,836	—	do.
12	5^h 48′	11′ 12″	1509,2	38,55 38,61	2,18	1,80	32,93	27,17	0,786	—	Nach Beendigung wird das Tier getötet.

Mit diesen wurden dann die Werte verglichen, die nach der Stärkeinjektion erhalten wurden.

In den 5 Versuchsreihen habe ich nach der Stärkeinjektion noch eine große Anzahl von Respirationsversuchen ausgeführt, um den zeitlichen Ablauf der Veränderung des Gaswechsels, die die Stärkeinjektion verursacht, verfolgen zu können. Die vorhergehenden Tabellen I bis III und die folgenden IV und V enthalten die Ergebnisse.

Für die Frage, ob die injizierte Stärke im Stoffwechsel verwertet resp. ob sie in die Oxydationsprozssse einbezogen wird oder andere Umwandlungen erleidet, ist das Verhalten des respiratorischen Quotienten entscheidend — wie ich das bereits

Tabelle IV.

Versuchsreihe 9. Hund. Gewicht 6300 g. Datum: 8. XI. 1909.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft: O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft: CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat.-Quotient	Anmerkungen
1	9h 53′	8′ 16″	2068,2	38,20 38,24	2,28	1,87	47,07	36,88	0,783	
2	10h 13′	8′ 4″	2123,2	38,24 38,26	2,31	2,06	49,07	41,95	0,855	
3	10h 37′	7′ 29″	2136,4	38,26 38,27	2,27	1,91	48,58	38,97	0,802	
4	10h 52′	8′ 7″	2128,9	38,27 38,26	2,32	2,00	49,41	40,70	0,824	
5	11h 28′	8′ 15″	2205,1	38,43 38,43	1,89	1,63	41,66	34,18	0,820	11h 14′ werden 161 ccm Blut aus derCarotis entnommen.
6	11h 45′	8′ 21″	2135,9	38,51 38,50	2,44	2,16	52,48	44,43	0,846	Von 11h 15′ bis 12h 50′ Infusion von 200 ccm einer 5 %igen Stärkelösung in die Vena jugularis.
7	12h 26′	8′ 27″	2131,1	38,54 38,48	2,19	2,11	46,69	43,24	0,926	
8	12h 59′	8′ 57″	2016,9	38,49 38,50	2,28	2,23	45,92	43,22	0,941	Das Tier stirbt um 2h 18′.

erwähnte. Wie die Tabellen zeigen, stieg nach der Stärkeinjektion der Quotient in allen Versuchen nicht unbedeutend, in einer Versuchsreihe (8) sogar um 0,151. Der maximale Wert, den der Quotient erreicht, steht mit der Menge der injizierten Stärke in Beziehung, indem er um so größer ist, je mehr Stärke injiziert wurde, wie das aus folgender Tabelle deutlich wird:

Versuchsreihe	Injizierte Stärke pro 1 kg	Maximalwert des RQ
9	1,99 g	0,941
8	1,29 „	0,905
7	0,89 „	0,904
10	0,78 „	0,884
6	0,41 „	0,877

Das Anwachsen des RQ beginnt sogleich nach der Injektion, erreicht den Maximalwert gewöhnlich kurz nach Beendigung derselben und bleibt dann noch im Durchschnitt 3 Stunden lang höher als normal, um dann wieder den Anfangswert zu erreichen (Versuchsreihe 10, 8, 6).

Tabelle V.

Versuchsreihe 10. Hund. Gewicht 5860 g. Datum: 12. XI. 1909.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft: O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft: CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat.-Quotient	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	10^h 17′	8′ 28″	2487,0	36,70 36,70	1,95	1,57	48,52	33,83	0,759	183	Hungerte vor dem Versuche seit 12 Tagen.
2	10^h 35′	7′ 27″	2186,7	36,60 36,70	2,14	1,75	46,71	36,47	0,781	195	
3	10^h 55′	8′ 00″	2145,5	36,80 36,70	2,08	1,65	44,69	33,64	0,753	198	
4	11^h 13′	7′ 36″	2245,3	36,70 36,80	1,99	1,64	44,61	34,98	0,785	197	
5	12^h 24′	8′ 7″	2241,1	37,70 37,20	1,87	1,66	41,82	35,41	0,847	86	11^h 35′ Aus der V. jugularis wird 3 ccm Blut entnommen.
6	1^h 9′	7′ 59″	2258,5	37,44 37,49	1,84	1,71	41,47	36,66	0,884	127	
7	1^h 46′	7′ 34″	2266,1	37,44 37,49	1,75	1,56	39,59	33,52	0,846	122	Infusion von 152 ccm einer 3 %igen Stärkelösung. Dauer der Infusion von 11^h 37′ bis 1^h 4′.
8	2^h 57′	8′ 26″	2172,6	37,05 37,03	1,86	1,70	40,32	35,02	0,869	107	
9	3^h 55′	8′ 24″	1982,2	37,50 37,51	1,94	1,66	38,41	31,26	0,814	140	
10	4^h 50′	8′ 23″	2030,6	37,02 37,04	1,71	1,53	34,78	29,34	0,844	124	
11	5^h 41′	7′ 43″	2022,1	36,96 37,00	1,98	1,64	40,06	31,52	0,787	83	Nach dem Versuch wird das Tier getötet.

Die Erhöhung des RQ kommt durch Zunahme der CO_2-Produktion und teilweise, öfter erst im späteren Verlauf der Versuche, durch Abnahme des O_2-Verbrauches zustande. Manchmal steigt vorübergehend auch der O_2-Verbrauch etwas, doch muß diesbezüglich bemerkt werden, daß, wie ich mich durch besondere Versuche — über welche ich in der Arbeit auf S. 45 berichte — überzeugte, schon die intravenöse Injektion einer reinen physiologischen NaCl-Lösung eine Zunahme des O_2-Verbrauches hervorrufen kann, was zur Abnahme des RQ führt. Da die Stärke in meinen Versuchen in physiologischer NaCl-Lösung gelöst war und trotzdem der RQ immer stieg, so beweist das, daß die Erhöhung der CO_2-Produktion infolge der Stärkeinjektion eine viel bedeutendere war, als die Erhöhung des O_2-Verbrauches durch die NaCl-Wirkung.

In einigen Versuchen blieb der RQ auch dann noch hoch, als die CO_2-Produktion schon wieder auf ihren anfänglichen normalen Wert zurückkehrte, was für eine durch die Stärkeinjektion verursachte Abnahme des O_2-Verbrauches spricht.

Meine Versuche beweisen demnach, daß, wie aus dem Anwachsen der CO_2-Produktion und des Quotienten $\frac{CO_2}{O_2}$ hervorgeht, die intravenös injizierte Stärke oxydiert wird. Ihre Verbrennung beginnt sofort nach der Injektion, dauert aber noch etwa 3 Stunden nach Beendigung der Injektion. Dasselbe kann man auch nach intravenöser Injektion von Zuckerlösungen beobachten. Mit Rücksicht auf die neueren Arbeiten aus dem Zuntzschen Laboratorium, die ergaben, daß bei Hungertieren nach Zufuhr von Kohlenhydraten infolge von Glykogenbildung eine Erhöhung des RQ ausbleibt, als Zeichen dafür, daß Kohlenhydrate nicht verbrannt werden, ist Versuch 10 besonders interessant. Das Tier hungerte 12 Tage lang bis zum Beginn des Versuches — und trotzdem führte auch bei diesem Tiere die Stärkeinjektion ebenso wie bei den anderen zu einer Erhöhung der CO_2-Produktion und des RQ. Die Stärke wurde also ebenfalls — wenigstens zum größten Teile — verbrannt.

V.

Ich legte mir nun die weitere Frage vor: macht es einen Unterschied in der Oxydation der intravenös injizierten Stärke, wenn sie unmittelbar der Leber zugefüht wird? Man konnte daran denken, daß die Leber auf diese Weise die Stärke ganz oder zum größeren Teile adsorbiert und eventuell auf diese Weise zur Glykogenbildung verwendet und damit der Oxydation entzieht. Wäre das oder ein ähnlicher Prozeß der Fall, so würde natürlich in diesem Falle die sonst sofort einsetzende Erhöhung der CO_2-Produktion und des RQ nach der Stärkeinjektion ausbleiben.

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich in 3 Versuchen die Stärkelösung nicht in die Vena jugularis, sondern in eine Vena lienalis injiziert, so daß die injizierte Lösung unmittelbar in die Leber gelangte. Die Ausführung dieser Injektion gelingt sehr leicht. Die Ergebnisse dieser 3 Versuchsreihen stellte ich in den folgenden Tabelle zusammen:

Tabelle VI.

Versuchsreihe 11. Hund. Gewicht 5000 g. Datum: 23. XI. 1909.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat. Quotient	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	11h 1′	12′ 18″	1524,9	38,93 39,34	2,881	2,500	43,93	36,84	0,839	113	
2	11h 26′	11′ 37″	1572,5	39,34 39,21	2,966	2,537	46,64	38,57	0,827	113	Nach dem 2. Versuch wird die Ventilation vergrößert.
3	12h 15′	9′ 55″	1764,7	38,40 38,14	1,979	1,801	34,92	30,30	0,868	79	12h 7′: Aus der Carotis werden 35 ccm Blut entnomm.
4	12h 43′	11′ 00″	1756,0	37,90 38,11	2,264	2,159	39,76	36,44	0,917	105	Von 12h 8′ bis 12h 50′ Infusion von 100 ccm 3 %ig. Stärkelös. i. d. Vena lienalis.
5	1h 14′	10′ 17″	1771,7	38,50 38,72	2,129	1,900	37,72	32,17	0,853	134	Um 1h 55′ stirbt das Tier.

Tabelle VII.

Versuchsreihe 12. Hund. Gewicht 6300 g. Datum: 25. XI. 1909.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat. Quotient	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	9h 54′	6′ 46″	2635,4	37,91 38,12	1,95	1,75	51,28	44,01	0,858	137	
2	10h 6′	7′ 10″	2616,2	38,22 38,28	1,97	1,75	51,51	43,53	0,845	139	
3	10h 33′	7′ 24″	2638,4	38,22 38,18	2,10	1,81	55,27	45,57	0,824	122	
4	11h 11′	6′ 10″	2659,9	38,01 37,97	1,84	1,70	48,94	43,09	0,880	123	
5	11h 55′	7′ 10″	2689,9	38,08 38,20	1,87	1,83	50,27	46,91	0,933	131	Von 11h 3′ bis 12h 49′ Infusion von 5 %iger Stärkelösung in die Vena lienalis.
6	12h 28′	7′ 15″	2631,2	38,31 38,31	1,99	1,87	52,39	46,97	0,897	139	
7	12h 51′	6′ 55″	2760,0	38,18 38,17	1,91	1,78	52,80	46,92	0,889	137	
8	2h 46′	7′ 23″	2561,1	38,33 38,52	1,89	1,79	47,22	42,57	0,901	137	
9	4h 52′	7′ 42″	2556,5	37,81 37,70	1,74	1,71	44,43	41,49	0,934	—	Nach Beendigung des Versuchs wird das Tier getötet.

Tabelle VIII.

Versuchsreihe 13. Hund. Gewicht 5150 g. Datum: 8. I. 1910.

Nummer	Beginn des Respirationsversuches	Dauer des Respirationsversuches	Atemvolum pro Minute ccm	Temp. des Tieres am Beginn und am Ende des Versuches °C	Veränderung der Respirationsluft: O_2-Abnahme %	Veränderung der Respirationsluft: CO_2-Zunahme %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	Respirat. Quotient	Blutdruck Hg mm	Anmerkungen
1	11h 20′	10′ 37″	1749,9	38,48 38,55	2,67	2,21	46,79	37,15	0,794	124	
2	11h 49′	10′ 00″	1823,7	38,46 38,43	2,68	2,25	48,88	39,48	0,808	131	
3	12h 8′	10′ 1″	1882,8	38,43 38,50	2,67	2,12	50,23	38,28	0,762	132	
4	12h 20′	10′ 7″	1868,4	58,50 38,56	2,57	2,14	48,07	38,36	0,798	127	
5	12h 54′	10′ 39″	1884,9	38,42 38,23	2,54	2,07	47,84	37,38	0,781	139	Von 12h 38′ bis 1h 27′ Infusion von 150 ccm 3%iger Stärkelösung in die Vena lienalis.
6	1h 28′	10′ 3″	1939,3	38,19 38,26	2,69	2,45	52,19	45,83	0,878	142	
7	2h 10′	9′ 34″	1949,1	38,63 38,68	2,87	2,43	56,23	45,75	0,814	140	
8	3h 9′	10′ 17″	1815,8	38,20 38,15	2,94	2,37	53,38	41,51	0,778	145	
9	4h 43′	8′ 44″	1983,8	38,40 38,48	2,92	2,26	57,97	43,09	0,743	142	Nach Beendigung des Versuchs wird das Tier getötet. Während des ganzen Versuchs wurden 35 ccm Urin mit 2,78% Zucker = 0,973 g entleert.

Die Daten dieser Tabellen beweisen, daß die **unmittelbar in die Portalvene injizierte Stärkelösung ebenso verbrannt wird, wie die in die Jugularvene injizierte;** auch der zeitliche Verlauf der Oxydation ist derselbe. Es ist also für die Verwertung der injizierten Stärke irrelevant, ob sie erst die Capillaren der übrigen Organe oder die der Leber passiert. Da auch die quantitativen Veränderungen des Gaswechsels dieselben waren, so dürfte es — soweit man aus dem Gaswechsel überhaupt darauf schließen kann — auch für die eventuelle Glykogenbildung aus der injizierten Stärke gleichgültig sein, ob die Stärke erst die übrigen Capillaren des Körpers durchläuft, bevor sie in die Leber gelangt.

Meine Versuche haben also zu einem ganz anderen Ergebnisse geführt, wie die bereits erwähnten Untersuchungen

von Moscati. Allerdings wurden diese mit einer ganz anderen Methodik ausgeführt, gegen die schwere Bedenken erhoben werden können. M. injizierte Stärke und bestimmte dann nach Pflüger Glykogen und entschied mit der Jodreaktion, ob das erhaltene Polysaccharid Stärke oder Glykogen war. Wie unsicher, ja unbrauchbar diese Farbenreaktion zur Differenzierung von Stärke und Glykogen ist, geht schon aus den Untersuchungen von Claude Bernard[1]) und von Naunyn[2]) hervor. Außerdem gibt M. nur relative Werte an und registriert seine Ergebnisse nur graphisch, mittels verschiedener Schattierung von Organumrissen, so daß eine Kontrolle seiner Angaben nicht möglich ist. Es kann auch nur die unzuverlässige Methode M.s auffallende Behauptung erklären, daß Stärke noch nach 11 Tagen in den Organen nachweisbar war. In meinen Versuchen wies ich nach, daß die Stärke selbst beim 12 Tage hungernden Hunde nicht (als Glykogen) abgelagert, sondern sofort verbrannt wird. Außerdem habe ich in Versuch 6 gleich nach Beendigung des Versuches aus der Leber Glykogen nach Pflüger dargestellt. Es zeigte reine, braune Farbe, auf Gegenwart von Stärke wies keine andere Farbennuance.

VI.

Nachdem meine Versuche ergaben, daß die intravenös injizierte Stärke nicht als solche oder etwa als Glykogen abgelagert, sondern im oxydativen Stoffwechsel verbraucht wird, mußte natürlich der weiteren Frage nähergetreten werden, auf welchem Wege die Stärke der Oxydation zugeführt wird. Der nächstliegende Gedanke ist der, daß die Stärke durch die Blutdiastase vorerst saccharifiziert und dann erst als Zucker verbrannt wird. Freilich muß diese Saccharifizierung sehr schnell vor sich gehen, da meine Versuche für eine rasche Verbrennung der Stärke sprechen.

Durch Wohlgemuths[3]) interessante Untersuchungen sind wir auch imstande, das saccharifizierende Vermögen des normalen Hundeblutes annähernd zu bestimmen. Aus seinen Daten

---

[1]) Claude Bernard, l. c.

[2]) Naunyn, Beiträge zur Lehre vom Diabetes mellitus. Arch. f. experim. Pathol. 3, 85, 1897.

[3]) Wohlgemuth, Untersuchungen über Diastasen. III. Das Verhalten der Diastasen im Blut. Diese Zeitschr. 21, 381.

berechne ich, daß das Blut eines etwa 5 kg schweren Hundes pro Minute annähernd 20 ccm einer 3⁰/₀igen Stärkelösung vollständig verzuckern kann. In meinen Versuchen injizierte ich aber bloß 3 ccm pro Minute! Es ist also nicht nur durchaus möglich, sondern höchst wahrscheinlich, daß bei der langsamen Injektion in meinen Versuchen die ganze injizierte Stärke schon im Blute verzuckert wurde.

Diese Annahme wollte ich nun durch Versuche bestärken. Es hatte schon Magendie (1846) bewiesen, daß nach Stärkeinjektion eine Zunahme des Blutzuckers eintritt. Befindet sich das Tier in einem Zustande der erhöhten Durchlässigkeit der Nieren für Zucker, so ist zu erwarten, daß die Erhöhung der Zuckerkonzentration im Blute die renale Ausscheidung des Zuckers steigern wird. Dieser Gedankengang bewog mich, die oben erwähnte Annahme der Stärkeverzuckerung im Blute von Tieren mit künstlichem Nierendiabetes zu prüfen. Wird bei solchen Tieren die in die Blutbahn injizierte Stärke so rasch, wie ich berechnete, in Zucker verwandelt und dadurch die Konzentration der letzteren im Blute erhöht, so muß der injizierten Stärkemenge annähernd proportional mehr Zucker im Harn erscheinen.

Zur Erzeugung von Nierendiabetes wählte ich Urannitrat. Der Urannitratdiabetes hat vor dem Phloridzindiabetes den Vorteil, mehrere Tage bis zu 2 Wochen zu dauern. Dadurch konnte ich meine Versuche so einrichten, daß ich die Zuckerausscheidung an Tagen mit Stärkeinjektion mit solchen ohne Stärkeinjektion vergleichen konnte.

Im folgenden beschreibe ich kurz diese Versuche:

Versuch 14.

Junger männlicher Hund.

Bekommt täglich 100 g Pferdefleisch. Am 6. XII. 1909 5 mg Urannitrat in Wasser gelöst subcutan. Täglich zur gleichen Zeit katheterisiert. Zuckerbestimmung im Harn nach Pavy:

Harn von 24 Stunden enthält Zucker:
8. bis 9. XII. (1. Tag) . . . 1,74 g
9. „ 10. XII. (2. „) . . . 1,36 g

Bekommt am 10. XII. intravenös 150 ccm 3⁰/₀ig. Amyl. sol. in 0,75⁰/₀ig. NaCl gelöst. (4,5 g Stärke = 4,92 g Dextrose.)

10. bis 11. XII. (3. Tag) . . . 6,50 g [1]
11. „ 12. XII. (4. „) . . . 1,14 g

[1]) Im Harn keine Stärke.

Berechnet man, wieviel Zucker das Tier ohne Stärkeinjektion am 3. Tage ausgeschieden hätte, so findet man als Mittel des 2. und 4. Tages 1,25 g. Berechnet man weiter, wieviel Zucker ausgeschieden werden mußte, wenn außerdem alle Stärke im Blute saccharifiziert wurde und unverbrannt in den Harn gelangt, so ergibt sich 1,25 + 4,92 = 6,47 g, was dem tatsächlich gefundenen Wert, 6,50 g, vollkommen entspricht.

Versuch 15.

Hund, weiblich.

Bekommt täglich 100 g Pferdefleisch. Am 6. XII. 1909 5 mg Urannitrat. Sonst wie im vorigen Versuch.

Harn von 24 Stunden enthält Zucker:

8. bis 9. XII. (1. Tag) . . . 8,88 g
9. „ 10. XII. (2. „) . . . 8,00 g

Bekommt am 10. XII. intravenös 100 ccm 3%ig. Amyl. sol. in 0,75%ig. NaCl gelöst. (3 g Stärke = 3,29 g Dextrose.)

10. bis 11. XII. (3. Tag) . . . 10,64 g
11. „ 12. XII. (4. „) . . . 2,35 g

Im Harn keine Stärke!

Wie der 4. Tag zeigt, nahm in diesen Versuchen aus unbekannten Gründen der Nierendiabetes bedeutend ab, wahrscheinlich auch schon am 3. Tage, was die Berechnung, wieviel an letzterem Tage auf Rechnung der injizierten Stärke zu setzen ist, unmöglich macht. Trotzdem geht auch so unzweideutig hervor, daß die Stärkeinjektion zu einer starken vorübergehenden Vermehrung der Zuckerausscheidung führte.

Versuch 16.

Männlicher Hund. 8000 g.

Bekommt täglich 150 g Pferdefleisch. Am 26. VI. 1910 5 mg Urannitrat. Sonst wie in den vorigen Versuchen.

Harn von 24 Stunden enthält Zucker:

1. bis 2. VII. (1. Tag) . . . 7,39 g
2. „ 3. VII. (2. „) . . . 6,01 g
3. „ 4. VII. (3. „) . . . 3,83 g

Bekommt am 4. VII. 200 ccm 3%ig. Amyl. sol. in 0,75%ig. NaCl innerhalb 45 Minuten in die Vena jugularis. (6 g Stärke = 6,54 g Dextrose.)

4. bis 5. VII. (4. Tag) . . . 6,07 g
5. „ 6. VII. (5. „) . . . 0,16 g

In diesen Versuchen nahm ebenfalls der Nierendiabetes rasch ab, was wie den in vorigen Versuchen die Deutung der Ergebnisse erschwert. Wenn auch am Injektionstage nicht die ganze aus der Stärke injizierte Zuckermenge ausgeschieden wurde, so ist auch hier eine sehr bedeutende Steigerung der Zuckerausscheidung zu konstatieren. Ja, nimmt man an, daß bereits am 4. Tage der Nierendiabetes sich so weit besserte, daß ohne Stärkeinjektion dieselbe Zuckermenge ausgeschieden worden wäre wie am 5. Tage, so würde auch in diesem Versuche der größte Teil des aus der Stärke entstandenen Zuckers ausgeschieden worden sein.

Aus allen diesen Versuchen ergibt sich also einstimmig, daß bei nierendiabetischen Hunden nach intravenöser Stärkeinjektion die Zuckermenge im Harn beträchtlich gesteigert ist, annähernd um so viel, als der injizierten Stärke entspricht. Im ersten der 3 Versuche (Vers. 14), wo die tägliche Zuckerausscheidung so gleichmäßig war, daß die Berechnung eines Mittelwertes gut möglich ist, ergibt sich sogar eine quantitative Übereinstimmung zwischen dem berechneten und dem gefundenen Wert des ausgeschiedenen Zuckers.

Diese Versuche bestärken demnach die Annahme, daß die intravenös injizierte Stärke im Blute selbst rasch verzuckert wird, woraus dann weiter folgt, daß die intravenös injizierte Stärke erst nach hauptsächlich — oder ganz — im Blute erfolgter Saccharifizierung der weiteren Verwertung und Oxydation zugänglich wird.

VII.

Bei allen bisher beschriebenen Versuchen habe ich gelöste Stärke verwendet. Für die Geschwindigkeit der Saccharifizierung bei der im normalen Blute gegebenen Fermentmenge ist dieser Zustand der Stärke bestimmend. Jedenfalls war zu erwarten, daß es nicht gleichtgültig ist, ob gelöste Stärke oder nicht aufgequollene Stärkekörnchen in die Blutbahn gelangen, ganz abgesehen davon, daß man nach den bereits vorliegenden experimentellen Erfahrungen erwarten konnte, daß die gleichschnelle Injektion von Stärkekörnchen-Emulsionen zu tödlicher Embolie führt. Ich wollte mich selbst davon über-

zeugen, welche Wirkung die intravenöse Injektion einer Emulsion von Stärkemehl — ohne vorheriges Aufkochen — hat.

Ich ließ bei 6 Hunden mit verschiedener Geschwindigkeit eine Stärkeemulsion in die Vena jugularis fließen — bei allen Tieren mit demselben Erfolge. Die Hunde gingen nach der Injektion von 100, 150, 200 ccm einer Stärkeemulsion, die $^{1}/_{2}$ g Amylum tritici in 100 g physiologischer Kochsalzlösung aufgeschüttelt enthielt, meistens noch während des Versuchs auf dem Operationstisch oder kurz darauf unter typischen Erscheinungen von Lungenembolie zugrunde. Dieselbe Erfahrung machte schon Moscati. — Bei der Sektion fand ich das Herz dilatiert, mit Blut gefüllt, die Lunge mit Blutungen durchsetzt, alle Blutgefäße dicht mit Stärkekörnern injiziert, so daß man mit Jod schon eine makroskopisch bemerkbare Zeichnung erhielt. Ein einziger Hund, der wenig und sehr langsam Stärke bekam, machte eine Ausnahme, indem er die erste Injektion überlebte. Als ich aber nach einigen Tagen die Injektion wiederholte, ging er ebenso ein wie die anderen Hunde.

Um so mehr war ich daher überrascht, als ich einem Hunde wiederholt verhältnismäßig größere Mengen von Stärkeemulsion intravenös beibringen konnte, ohne daß er irgendwelche Störungen zeigte. Es war ein Hund, dem einige Monate vorher Herr Dr. Pólya eine Trypsinlösung in das Pankreas injizierte, wodurch, wie die spätere Sektion erwies, mehr als die Hälfte des Pankreasgewebes durch Nekrose und interstitielle Entzündung verödete. Sollte da ein Zusammenhang zwischen der Erkrankung des Pankreas und der Fähigkeit des Tieres die intravenöse Injektion der Stärkeemulsion zu vertragen, bestehen?

Um auf diese Frage eine Antwort zu erhalten, habe ich einigen Hunden das Pankreas teilweise exstirpiert und intravenös eine Stärkeemulsion injiziert. Als Kontrolle wurde gleichzeitig von derselben Emulsion einem Hunde mit normalem Pankreas in die Vena jugularis injiziert. Beide Hunde waren mit Morphin narkotisiert.

Versuchsreihe 17.

Am 29. I. 1910, nachmittags 6 Uhr.

Beide Hunde erhalten in die Vena jugularis in 25 Minuten je 200 ccm einer 1 bis 2%igen Amylum tritici-Emulsion in 0,85%iger NaCl-Lösung.

Hund A.

Normal. Gewicht 5100 g. Stirbt 1 bis 2 Minuten nach Beendigung der Injektion unter Embolieerscheinungen.

Hund B.

4400 g. Am 28. I. 1910 vormittags 11 Uhr wurden Kopf und Schwanz des Pankreas exstirpiert.

Das Tier erhielt
am 28. I. 16 cg. Morphin
„ 29. I. 16 „ „
„ 30. I. 4 „ „

Während der Injektion normal. Stirbt $1^1/_2$ Tage nach der Injektion anscheinend an Morphinvergiftung. Bei der Sektion keine Veränderung der Lunge.

Versuchsreihe 18.

Am 6. I. 1910, vormittags 11 Uhr.

Beide Hunde erhalten intravenös in 27 Minuten je 200 ccm einer $^1/_2$ %igen Amylum tritici-Emulsion in 0,85%iger NaCl-Lösung.

Hund A.

Normal. 7800 g. Stirbt während der Injektion unter Erscheinungen von Lungenembolie.
Sektion: Lungenembolie.

Hund B.

900 g. 4. I. 1910, nachmittags 6 Uhr. 12 cg Morphin. Exstirpation von Kopf und Querast des Pankreas. — Atmung bleibt während der ganzen Injektion normal. Stirbt nach 2 Tagen an Peritonitis. Hatte während der Exstirpation die Därme herausgepreßt. In der Lunge keine Veränderungen.

Man sieht also: nach partieller Exstirpation des Pankreas ertragen Hunde die Injektion einer Stärkeemulsion, die normale Hunde momentan tötet.

Für diesen merkwürdigen Befund geben wiederum die Versuche Wohlgemuths[1]) die annehmbarste Erklärung. Wohlgemuth wies nämlich nach, daß nach partieller Pankreasexstirpation die Diastase im Blute stark zunimmt. Er erklärt das damit, daß zugrunde gehendes Pankreasgewebe aufgesaugt wird. Dasselbe darf man wohl auch bei chronischer Pankreatitis annehmen. Nach den Versuchen von Wohlgemuth kann ich wohl auch für meine Versuche annehmen, daß nach der partiellen Exstirpation des Pankreas und nach teilweiser Verödung desselben durch Nekrose mit interstitieller Entzündung eine solche Zunahme der Blutdiastase eintritt. Dadurch konnten die ungelösten Stärkekörnchen so schnell verzuckert werden, daß keine Embolie entstand. Das scheint mir die nächstliegende Erklärung zu sein.

---

[1]) Wohlgemuth, Untersuchungen über Diastasen. III. Das Verhalten der Diastase im Blut. Bioch. Zeitschr. 21, 381.

Ich fasse die Ergebnisse meiner Versuche in folgenden Punkten zusammen:

1. Die Niere ist für Stärke permeabel; gelangt diese jedoch langsam in das Blut, so erscheint sie nicht im Harn.

2. Aus dem Blut verschwindet auch entsprechend langsam infundierte Stärke sehr schnell.

3. Die intravenös injizierte Stärke wird verbrannt. Der respiratorische Quotient und die CO_2-Produktion erhöhen sich.

4. Diese Verbrennung läuft ebenso ab, wenn die Injektion nicht in die Vena jugularis, sondern in die Vena portae geschieht.

5. Bei Hunden mit Nierendiabetes erscheint nach einer Stärkeinjektion, der injizierten Stärkemenge entsprechend mehr Zucker im Harn. Die Stärke wird also im Blute saccharifiziert und dann erst als Zucker verbrannt.

6. Bei partieller Pankreaseexstirpation oder nach Verödung des Pankreas vertragen Hunde die Injektion von Stärkeemulsionen, die normale Hunde tötet, was durch eine starke Zunahme der Blutdiastase erklärt werden kann.

Es entspricht dies vollkommen unseren bisherigen Kenntnissen über Verwertung anderer intravenös eingeführter Kohlenhydrate. Solche Disaccharide, für die im Blute keine entsprechenden spaltenden Enzyme vorhanden sind, wie Rohrzucker und Milchzucker, erscheinen fast vollständig im Harn, werden also vom Organismus nicht ausgenützt [Cl. Bernard,[1]) Dastre,[2]) F. Voit,[3]) Pavy,[4])] dagegen wird die Maltose, für die das Blut ein entsprechend spaltendes Enzym, die Maltase, enthält, bei intravenöser Injektion verbrannt. Schon F. Voit[5]) weist darauf hin, daß bei Dextrin, Glykogen und Stärkemehl die Verhältnisse ähnliche sein dürften. In meinen Versuchen ist das für die Stärke direkt bewiesen.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter der Leitung des Herrn Prof. Franz Tangl ausgeführt.

---

[1]) Claude Bernard, l. c.

[2]) Dastre, Pouvoir nutritif direct du sucre de lait. Arch. de Physiol. 21, 718.

[3]) E. Voit, Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. und Physiol. München 12, 71 (zit. nach Weinland in Nagels Handbuch 2, 429).

[4]) Pavy, An Inquiry into the effects on the blood and urine of the intravenous and subcutaneous injection of various carbohydrates standing in relation to animal life. Journ. of Physiol. 24, 429.

[5]) F. Voit, Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. München 13, 359 (zit. nach Weinland, l. c.).

Aufsaugung und Ausscheidung von Stärkekörnern.

Von

Fritz Verzár.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Im Jahre 1907 veröffentlichte Rahel Hirsch[1]) Beobachtungen, nach denen sie im Urin und Blut von Hunden und Menschen, denen sie Stärkemehl zu essen gab, echte Stärkekörner fand, und zwar immer solche, die verabreicht wurden.

Schon lange vorher hatte Donders[2]) (1859) gezeigt — wie das auch von R. Hirsch erwähnt wird —, daß beim Frosch sowohl Stärkekörner als auch Kohlenpartikel aufgesaugt werden, d. h. durch das Darmepithel ins Blut gelangen. Diese Befunde sind aber, wohl wegen ihrer großen Unglaubhaftigkeit, nie nachgeprüft worden und so in Vergessenheit geraten.

Wederhake[3]) fand echte Amylumkörper, die sehr wohl von Corpora amylacea zu unterscheiden waren, in den verschiedensten Se- und Exkreten und konnte sie selbst in mikroskopischen Hodenschnitten nachweisen, ohne aber diese merkwürdigen Befunde näher zu erklären oder zu begründen.

Die einzigen gründlichen Untersuchungen über diese wichtige Frage sind die von R. Hirsch. Sie werfen — sofern den Beobachtungen kein Irrtum zugrunde liegt — ein entscheidendes Licht auf die alte Frage, ob ungelöste, geformte Substanzen

---

[1]) R. Hirsch, Über das Vorkommen von Stärkekörnern im Blut und Urin. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1906, 390.

[2]) Donders, Pyhysiol. des Menschen. 2. Aufl. 1859, S. 325 bis 326.

[3]) Wederhake, Über das Vorkommen echter Amylumkörper in den menschlichen Sekreten und Exkreten. Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 16, 517 bis 519.

aufgesaugt werden können. Ja, sie gewinnen noch an Merkwürdigkeit dadurch, daß sie gleichzeitig auch eine Ausscheidung durch die Nieren dartun.

Es versprach deshalb schon allein die Widerholung der Versuche von R. Hirsch kein geringes Interesse, und außerdem sollte — wenn tatsächlich eine Resorption nachgewiesen werden konnte, nach dem Wege gesucht werden, den die Stärkekörner im Organismus nehmen.

Ich muß bekennen, daß ich mich durchaus voreingenommen, und zwar von der größten Skepsis durchdrungen, an diese Frage machte. Ja, ich gestehe es, daß ich vollkommen von der „Unmöglichkeit" dieser Behauptungen überzeugt war. Ich dachte an zwei Möglichkeiten. Entweder sind die beobachteten Körner nicht Stärkekörner, sondern vielleicht identisch mit den von Veit und Wederhake[1]) beschriebenen verschiedenen Arten von Corpora amylacea, welch letztere von den Autoren besonders bei Blasenkrankheiten gefunden wurden. (Mit den gewöhnlichen, allbekannten Corpora amylacea können echte Stärkekörner unmöglich verwechselt werden.) Oder aber — das war die zweite Möglichkeit — wurde in den bisherigen Untersuchungen nicht mit absoluter Reinlichkeit gearbeitet und die Stärkekörner gelangten als Verunreinigung, als Staub in die verwendeten Gläser und Reagenzien. Meine erste Aufgabe war deshalb, diese Versuche mit peinlicher Sorgfalt und Kritik zu wiederholen.

Um absolute Reinlichkeit zu erreichen und jede Verunreinigung mit stärkehaltigem Staube auszuschließen, ging ich folgendermaßen vor: Alle Gläser (Objektträger usw.), die mit den zu untersuchenden Objekten in Berührung kommen sollten, wurden in konzentrierter Schwefelsäure ausgekocht, kamen dann in Alkohol, Äther, und wurden endlich durch eine Flamme gezogen und nicht mit der Hand berührt. Alle Reagenzien (Jodlösung usw.) wurden aufgekocht. Bei den Tierversuchen wurde der Urin nur mittels ausgekochtem Katheter entnommen.

Zur Identifizierung benutzte ich die Jodreaktion der Stärke. Zum zentrifugierten Sediment des Urins usw. wurde Lugol-

---

[1]) Veit und Wederhake, Zur Morphologie des Urins und der Galle. Münch. med Wochenschr. 54, 2030 bis 2031, 1907.

sche Lösung gegeben und dann dasselbe mittels Pipette auf einen Objektträger gebracht.

Das Ergebnis dieser Versuche war ausnahmslos positiv. In allen Fällen konnte ich sowohl beim Menschen wie bei den Tieren konstatieren, daß Stärkekörner im Harne ausgeschieden werden. Wichtig scheint es und beweist wohl mit größter Sicherheit, daß es sich hier um keine Täuschung bzw. Verwechslung handelt, daß vor der Einverleibung der Stärke im Harne nie den Stärkekörnchen ähnliche Gebilde vorkamen, und daß die Stärkekörner nur kurze Zeit nach der Stärkezufuhr im Harne zu finden waren, um dann wieder vollständig daraus zu verschwinden. Ich will nun die Versuche einzeln beschreiben.

Versuche an mir selbst.

Drei Tage lang — vom 6. XI. bis 8. XI. 1908 — stärkefreie Nahrung.
9. XI. morgens $10^1/_2$ Uhr: Im Urinsediment keine Stärkekörner.
11 Uhr: Einnahme von 90 g Amylum tritici in kalter Milch.
Nachmittags $4^1/_2$ Uhr: Im Urin wenig Stärkekörner.
Abends 10 Uhr: Im Urin viel Stärkekörner.
10. XI. morgens $7^1/_2$ Uhr: Im Urin viel Stärkekörner.
Nachmittags $2^1/_2$ Uhr: Im Urin keine Stärkekörner.

Ebenso verliefen noch 2 weitere Selbstversuche positiv.

Versuche an Hunden.

Es wurden mehrere Versuche mit ganz gleicher Versuchsanordnung gemacht. Als Beispiel diene der folgende:

31. 12. 1908. 15 bis 20 kg schwerer weiblicher Hund. Bekommt um $8^1/_2$ Uhr morgens 300 g Amylum tritici in Milch. Wird dann zu einem anderen Versuch gebraucht und stirbt um 3 Uhr nachmittags. Der Urin wird direkt aus der Blase geholt, indem die Ureteren und die Urethra unterbunden, die Blase herausgeschnitten und aus der gefüllten Blase der Urin durch Punktion direkt in ein steriles Gefäß gelassen wird. Im Sediment des Urins kann man deutlich Stärkekörner konstatieren. Bei der Sektion findet sich im ganzen Dünndarm Stärke.

Durch besondere Versuche überzeugte ich mich davon, daß bei reiner Fleischnahrung im Harne des Hundes keine den Stärkekörnern ähnliche Gebilde vorkommen.

Noch strengere Maßnahmen gegen die Möglichkeit einer Verunreinigung des Harnes mit stärkehaltigem Staub habe ich beim folgenden Versuch getroffen:

6. XII. 1909. Hund, 7000 g, weiblich, bekommt vom 1. XII. bis 6. XII. nur Pferdefleisch.

6. XII. vormittags 10 Uhr: Im Harn keine Stärkekörner.

Vormittags 11½ Uhr: Um irgendwelche Verunreinigung sowohl des Zimmers, als auch meiner Hände zu verhüten, bekommt er von einer anderen Person in einem anderen Teile des Gebäudes mittels Magensonde 200 g Amylum tritici, in Wasser suspendiert, in den Magen gegossen. Das Maul des Tieres wurde sorgfältig abgewaschen, um es vor eventuell anhaftenden Stärkekörnern zu reinigen.

Nachmittags 3 Uhr: Im Urin keine Stärkekörner.

Nachmittags 5½ Uhr: Im Urin keine Stärkekörner.

Abends 8 Uhr: In jedem Präparat aus dem zentrifugierten Urinsediment mehrere große Stärkekörner.

Die Harnproben wurden stets mittels Katheters aus der Harnblase genommen. Die Stärkekörner erschienen also erst 8½ Stunden nach der Stärkeinfusion im Harne. Vorher waren die Harnbefunde quoad Stärkekörner negativ!

Versuche an Kaninchen.

Die Tiere erhielten die Stärke mittels Sonde in den Magen. Der Urin wurde mit Katheter entnommen und es wurden darin nach einiger Zeit so wie bei den Hunden Stärkekörner nachgewiesen.

Versuche an Ratten.

Die Tiere ließ ich zuerst einige Tage hungern, dann fraßen sie den ihnen gereichten Stärkebrei spontan. Die Tiere wurden 3 Stunden nach der Mahlzeit getötet. Nach der Tötung wurde die abgebundene Harnblase aus der Bauchhöhle entfernt und der Harn durch Punktion in ein reines staubfreies Gefäß entleert. Positiver Befund von Stärkekörnern.

Ganz von selbst wirft sich da die Frage auf, wie es denn möglich ist, daß bei den Harnuntersuchungen bisher die Stärkekörner übersehen wurden, da doch bei der Häufigkeit der Stärke in den Nahrungs- und Futtermitteln dieselben jedenfalls auch im Harn nicht zu selten vorkommen dürften.

Tatsächlich werden sie auch sehr häufig gefunden — doch wurden sie stets als Verunreinigung des Harnes gedeutet. Ich will bloß die diesbezügliche Stelle aus dem bekannten Buche von Spaeth[1]) zitieren, wo es im Kapitel über „zu-

[1]) Spaeth, Untersuchung des Harnes. 1908. S. 609.

fällige Beimengungen und Verunreinigungen" heißt: „Stärkekörner, von Puder herrührend, sind leicht an der charakteristischen Gestalt . . . zu erkennen."

Wenn auch tatsächlich der entleerte Harn leicht mit Stärkekörnern verunreinigt werden kann, so wird man nunmehr nach den Befunden von R. Hirsch, die ich auf Grund meiner Versuche voll bestätigen kann, nicht jeden Stärkebefund im Harn ohne weiteres als Verunreinigung deuten dürfen.

Nach meinen Versuchen betrachte ich es, in Bestätigung der Angaben von R. Hirsch, als erwiesen, daß Stärkekörner als solche vom Darme in die Blutbahn gelangen und von da durch die Niere in den Harn ausgeschieden werden können.

Bereits R. Hirsch hat bewiesen, daß tatsächlich auch im Blute Stärkekörner gefunden werden können. Auch diesen Befund konnte ich in meinen Versuchen bestätigen. Bei einem Hunde, dem mittels einer Sonde 200 g Stärke in Milch aufgeschwemmt in den Magen gegossen wurden, fand ich im Blut einige wenige Stärkekörner.

Ich ging nun weiter der Frage nach, auf welchem Wege die Stärkekörner vom Darm in die Blutbahn gelangen — direkt oder auf dem Umwege der Chylusgefäße? Zu diesem Zwecke stellte ich 2 Versuche an, in denen einmal 7 Stunden, das andere Mal $6^1/_2$ Stunden, nachdem das Tier Stärke bekommen hatte, Lymphe aus dem Ductus thoracicus aufgefangen wurde. Trotzdem der gleichzeitig ausgeschiedene Urin Stärkekörner enthielt, waren dieselben in der Lymphe nicht zu finden. Die Versuche sprechen also dafür, daß die Stärkekörner nicht durch den Ductus thoracicus, sondern vom Darm direkt ins Blut gelangen.

Mit dem einmaligen Nachweis von Stärkekörnern im dem lebenden Tiere entnommenen Blute wollte ich mich nicht zufrieden geben, sondern wollte mich gleichzeitig über die Verteilung der Körner im Blutkreislaufe orientieren, wobei mich auch die allerdings nicht sehr begründete Hoffnung leitete, damit gleichzeitig etwas über den Mechanismus der Ausscheidung der Körnchen zu erfahren.

Zu diesem Zwecke habe ich die Organe von mehreren mit Stärke gefütterten Ratten und einem Hunde — in deren

Harn Stärkekörner gefunden wurden, und die zu einer Zeit getötet wurden, wo erfahrungsgemäß Stärkekörner fortdauernd ausgeschieden werden, histologisch untersucht. Fixiert habe ich die Organe teils in Müllerscher Flüssigkeit, teils in Alkohol, dann in Celloidin eingebettet. Die Schnitte habe ich dann in Jod-Glycerin untersucht. Leider bleiben die Stärkekörner in solchen Präparaten höchstens einige Tage gefärbt.

Die Schnitte habe ich sehr sorgfältig auf einem beweglichen Objekttisch durchsucht.

Das Ergebnis der Untersuchung von einigen hundert Präparaten war, daß beim Hund Stärkekörner in den großen Blutgefäßen der Leber und in Blutgefäßen der Niere gefunden wurden.

Bei Ratten fand ich sie zahlreicher im Fettgewebe neben den Nieren und (wahrscheinlich in den Capillaren) der Nebenniere, und in der Niere.

Freilich muß man viele Dutzende von Präparaten durchsehen, um vielleicht ein Stärkekörnchen zu finden, und oft kostet es stundenlanges Suchen. Auf die Möglichkeit, den Durchtritt von Stärkekörnern aus den Blutgefäßen in die Tubuli uriniferi der Niere zu sehen, konnte ich natürlich nicht rechnen. Wohl fand ich Stärkekörner sowohl in Blutgefäßen der Niere, wie auch einigemal im Lumen der Tubuli recti liegen; einigemal schien es so, als ob sie zwischen den Zellen im Interstitium liegen würden. Einige Bedeutung möchte ich dem Umstande beimessen, daß ich nie ein Stärkekorn in einem Glomerulus fand. — Es wäre ein leidiges Geschäft gewesen, den Darm mikroskopisch zu untersuchen, um den Durchtritt von Stärkekörnern durch das Epithel zu sehen. Ich habe es darum auch unterlassen. Die Menge von Stärkekörnern, die nach einer Fütterung den Darm füllen, ist so, groß, daß eine Verunreinigung des Präparates durch künstliche nachträgliche Verschleppung und Hineinpressen beim Schneiden nicht ausgeschlossen werden kann.

Nachdem also, wie ich glaube, trotz allem Unglauben die Aufsaugung und Ausscheidung von Stärkekörnern eine nicht mehr abzuleugnende Tatsache ist, wird wohl jedermann den Wunsch fühlen, sich über den Mechanismus ein Bild zu machen.

Über den Mechanismus des merkwürdigen, jedermann zuerst sicherlich unglaubhaft erscheinenden Vorgangs der Aufsaugung und Ausscheidung von Stärkekörnern läßt sich nichts Positives aussaugen. Eine Vorstellung kann man sich ja allerdings darüber bilden. Vor allem muß man eine aktive Beteiligung der Leukocyten an dem Transport der Stärkekörner ganz ausschließen. Ganz abgesehen davon, daß man nie etwas von einer Ansammlung von Leukocyten in der Nähe von Stärkekörnern sieht, spricht schon die Größe der Stärkekörner (0,02 bis 0,1 mm) dagegen. Ich stelle mir vor, daß die ovalen harten Stärkekörner, die den Darm füllen, durch peristaltische Bewegungen auf das Epithel gepreßt und entweder durch die Fettsubstanz zwischen den Epithelzellen oder durch einen kleinen zufälligen Epitheldefekt durchschneiden und so in das interstitielle Gewebe oder in eine Blutcapillare gelangen. Immerhin gelangt nur ein ganz verschwindend geringer Teil der Stärkekörner auf diese Weise in die Blutbahn und mit dem Blute in die verschiedenen Organe. Von den einigen Milliarden Stärkekörner, die mit 100 ccm meiner Stärkelösung in den Darm gegossen wurden, kommen etwa 40 in den Harn. Ein Teil dürfte ja allerdings durch die Blutdiastase angegriffen und gelöst werden, doch wies schon Maquenne[1]) nach, daß die Diastase auf Stärkekörner viel langsamer wirkt als auf gelöste Stärke. Während in seinen Versuchen Kleister vollständig verzuckert wurde, schwanden in derselben Zeit von den ungelösten Stärkekörnern bloß 2,8°/₀. Es ist aber durchaus möglich, daß eine Anzahl Stärkekörner unversehrt die Blutbahn durchlaufen und in die Capillaren einer Drüse — z. B. die Nieren — gelangen kann. In den Capillaren können so temporäre Embolien entstehen, die so lange bestehen, bis das steckengebliebene Stärkekorn durch die Blutdiastase gelöst wird. Durch den Blutdruck kann es aber schon vorher durch die Capillarwand gepreßt werden und mit dem Sekretstrom in das Lumen der Harnkanälchen gelangen.

Daß corpusculäre Elemente ohne jede aktive Bewegung aus dem Darmlumen in die Darmwand gelangen können, darüber

---

[1]) Maquenne, Über die Natur der rohen Stärke. Compt. rend. 138, 375 bis 377; zit. nach Malys Jahrb. f. Tierchemie 1904.

liegen auch andere Beobachtungen vor. So gibt Krehl[1]) in seiner pathologischen Physiologie bekannt, daß ihm Prof. v. Baumgarten an Präparaten gezeigt hat, wie bei Kaninchen feine Haare in die Follikel des Darmes eindringen oder eingespießt werden. Ähnliches kann auch mit Stärkekörnern geschehen. Die Konsistenz der Stärkekörner dürfte bei diesem Eindringen eine wichtige Rolle spielen, ebenso bei dem Ausscheiden in der Niere und auch erklärlich machen, daß die viel größeren Stärkekörner die Capillarwand durchschneiden, während die viel kleineren, aber weichen roten Blutkörperchen die normale Capillarwand nicht passieren.

Wenn wir auch über den Mechanismus der Aufsaugung und Ausscheidung von Stärkekörnern nicht orientiert sind, so kommt dem Befunde von Stärkekörnern im Blute und im Harne nach Einführung von ungelöster Stärke in den Darmkanal eine nicht geringe allgemeine biologische Bedeutung zu. Es ist damit bewiesen, daß körperliche Teilchen ohne gelöst zu werden und ohne jede aktive Bewegung vom Darmkanal in die Blutbahn gelangen und aus dem Blute wieder ebenfalls in ungelöstem Zustande ausgeschieden werden können.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter der Leitung von Herrn Prof. Franz Tangl ausgeführt.

---

[1]) Krehl, Pathologische Physiologie 1906. S. 201.

Über die Bedeutung des Schmelzpunktes der Fette für die Geschwindigkeit ihrer Entleerung aus dem Magen.

Von

Franz Tangl und Alexander Erdélyi.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.)

(*Eingegangen am 27. April 1911.*)

I.

Es wurden bereits von verschiedenster Seite und mittels verschiedener Methoden, an Menschen sowohl als auch an Tieren, Untersuchungen darüber angestellt, innerhalb welcher Zeit das in den Magen eingeführte Fett in den Dünndarm gelangt. Hingegen wurde unseres Wissens bisher noch nicht geprüft, ob die Entleerung der bei Körpertemperatur flüssigen und festen Fette gleich rasch vor sich geht. Dieser Frage näher zu treten schien um so eher lohnend, da ja seit Pawlows Untersuchungen bekannt ist, daß die Fette die Entleerung des Magens auf reflektorischem Wege verlangsamen, ein fettreicher Inhalt daher längere Zeit im Magen verbleibt. Es war demnach denkbar, daß die Fette, wenn sie je nach ihrem Schmelzpunkte den Magen bald schneller, bald langsamer verlassen, auch dessen motorische Tätigkeit in verschiedener Weise beeinflussen. Wenn wir weiter bedenken, wie stark die Magenverdauung von der mehr oder weniger raschen Entleerung des Mageninhaltes beeinflußt wird, wird die Wichtigkeit der oben aufgeworfenen Frage ohne weiteres klar.

Zweck unserer Untersuchung war, festzustellen, wie schnell die Fette von verschiedenem Schmelzpunkte — wie Leinöl, Olivenöl, Schweinefett und Rindertalg — den Magen verlassen. Leinöl und Olivenöl sind bei Zimmer-

temperatur bekanntlich flüssig, Schweinefett von salbenartiger Konsistenz und Rindertalg fest.

Um mit den genannten Fetten vergleichbare Versuchsergebnisse zu erhalten, mußten die Fette unter möglichst gleichen Bedingungen in den Magen gebracht und namentlich dafür Sorge getragen werden, daß sie in dem Mageninhalt möglichst gleich verteilt seien.

Bei ihrem verschiedenen Aggregatzustand war dies nur so zu erreichen, daß wir aus ihnen, jedesmal unter Verwendung desselben Dispersionsmittels, Emulsionen bereiteten, wodurch erreicht wurde, daß die Fette immer mit genau denselben Substanzen in den Magen gelangten, so daß (außer den Fetten) auf die Magenschleimhaut stets die gleichen chemischen Reize wirkten.

Zur Herstellung der Emulsionen wurden 4 Teile des betreffenden Fettes mit 5 Teilen pulverisiertem Gummi arabicum und 7,5 Teilen Wasser in einer Porzellanschale gründlich verrieben und die so entstandene dicke Emulsion weiter mit so viel Wasser vermischt, bis ihr Fettgehalt schließlich dem der Kuhmilch (3 bis 4%) gleichkam.

Mit Schweinefett und Rindertalg konnte eine haltbare Emulsion nur so gewonnen werden, daß sie vorher geschmolzen und noch warm mit Wasser verrieben wurden.

Um quantitativ arbeiten zu können, mußte die Menge der in den Magen eingebrachten Fette genau bestimmt werden. Da die Emulsionen der verschiedenen Fette, die auch einen verschiedenen Geschmack hatten, nicht von allen Tieren genommen wurden und es zudem auch wünschenswert war, daß das Einbringen der Emulsion in den Magen in allen Versuchen möglichst gleich lang dauere, wurden die Emulsionen immer mit einer Sonde in den Magen eingeführt.

Es wurden möglichst gleich schwere Tiere (Hunde) im Gewichte von 6 bis 10 kg verwendet und ihnen stets je 200 ccm der Emulsion beigebracht; 50 ccm derselben wurden unmittelbar vor jedem Versuche zur Bestimmung des Fettgehaltes beiseite gestellt. Das Fett, das in der Regel an der Innenwand der Magensonde haften blieb, wurde hinterher mit einigen Kubikzentimeter lauwarmen Wassers in den Magen gespült; minimale Fettmengen, die dann noch haften blieben, wurden zu dem später aus dem Magen zurückerhaltenen Fett hinzugespült.

Um zu bestimmen, wieviel von dem in den Magen gebrachten Fette in den Dünndarm gelangte, hatten wir uns nicht der Pawlowschen Fistelmethode, sondern eines weit einfacheren Verfahrens bedient, das von A. Müller[1]) in seinen unter Kreidls Leitung angestellten Versuchen verwendet wurde. Müller ließ seine Tiere durch subcutane Injektion von je 1 bis 2 ccm einer 1,0%igen Lösung von Apomorphin. hydrochloric. sich erbrechen und erhielt so in bequemster Weise einige Minuten später ihren Mageninhalt. Unsere Hunde erbrachen sich jedesmal, nachdem sie 1 bis 2 ccm (resp. in später wiederholten Versuchen mehr) Apomorphin eingespritzt erhalten hatten. Sie wurden einige Minuten nach erfolgter Injektion auffallend still, blickten starr vor sich hin, ihre Pupillen erweiterten sich und es trat Speichelfluß ein; bald darauf setzten sie sich hin und begannen nach einigen lauten krampfhaften Inspirationsbewegungen sich zu erbrechen. In der Regel wurde der ganze Mageninhalt auf einmal entleert, seltener nur portionenweise. Nachher waren die Tiere 1 bis 2 Stunden betäubt und fraßen nicht, wurden aber bald wieder munter. Größere Dosen des Apomorphins erzeugten toxische Symptome, namentlich charakteristische unkoordinierte Bewegungen. Um aber auch den ganzen Mageninhalt sicher zurückzuerhalten, versuchten wir, den Magen mittels der Magensonde auszuwaschen, was aber nicht gut gelang. Weit besser erwies es sich, den Tieren durch die Sonde 100 bis 200 ccm warmes Wasser einzugießen und sie durch eine neue Dosis von 1 cg Apomorphin wieder sich erbrechen zu lassen; das Erbrochene bestand diesmal in der Regel aus reinem Wasser.

Damit der Magen vor dem Versuche sicher leer sei, ließen wir die Hunde vorher 2 bis 3 Tage hungern. In der Regel fanden sich dann im Magen keine Speisereste, nur hin und wieder verschluckte Haare. Ein und dasselbe Tier wurde öfter zu Versuchen verwendet, wenn auch nicht so oft als es erwünscht gewesen wäre, weil sich einige Tiere sehr bald an das Apomorphin derart gewöhnt hatten, daß dasselbe kein Erbrechen mehr erzeugte.

Der Fettgehalt sowohl der in den Magen eingebrachten Emulsion als auch des erbrochenen Mageninhaltes wurde nach derselben Methode bestimmt, und zwar wurden außer den oben

[1]) A. Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. 116, 163. 1907.

bereits erwähnten 50 ccm der Emulsion, 100 ccm des auf 500 ccm verdünnten Erbrochenen mit je 50 ccm unter 60° C siedenden Petroläthers 25 Minuten auf der Schüttelmaschine ausgeschüttelt. Von dem Petroläther wurden 25 ccm in einer Glasschale verdampft und im Vakuumtrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Bestimmungen wurden immer mindestens doppelt vorgenommen und aus zwei gut übereinstimmenden Analysen der Mittelwert genommen.

Ehe wir an die Beschreibung unserer Versuche gehen, soll noch mit einigen Worten begründet werden, warum wir uns der oben beschriebenen Methodik bedient haben, resp. deren Verwendbarkeit und Verläßlichkeit bewiesen werden. Zunächst ist diese Methode weit einfacher als die Fistelmethode, und da sie mit keinem operativen Eingriff verbunden ist, findet keinerlei Änderung der natürlichen Verhältnisse statt. Das kann nicht hoch genug eingeschätzt werden, und ist bei Anlegung einer Magenfistel — sei sie auch die best ausgeführte — kaum zu erwarten.

Allerdings hat unsere Methode im Vergleiche mit der Fistelmethode den zweifellosen Nachteil, daß sie keine kontinuierliche Versuchsreihe am selben Tiere gestattet, es daher nicht möglich ist, nach einmaliger Einführung von Fett festzustellen, wieviel Fett in gewissen Zeitabständen den Magen verlassen hat. Hierzu bedarf es immer neuerer eventuell an mehreren Hunden ausgeführter Versuche.

Bedenken konnten gegen die Methode bei der Überlegung entstehen, daß mittels des Brechaktes der Mageninhalt nicht vollkommen zu erhalten sei. Es lag auch die Möglichkeit vor, daß an der Magenschleimhaut Fettmengen haften bleiben, die an und für sich schon einen merklichen analytischen Fehler bedingen würden. Zwar hatte sich bereits Müller davon überzeugt, daß nach dem erfolgten Brechakte nichts mehr mittels Spülung aus dem Magen herausbefördert werden kann und daß der Magen des nachher getöteten Tieres vollkommen leer ist. Immerhin war es erwünscht, uns von etwaigen Fehlerquellen der Methode auch selbst zu überzeugen.

Es wurden hierzu folgende Vorversuche angestellt: Emulsionen, in der Menge und ganz so bereitet, wie wir sie später

zu unseren Versuchen verwendeten, wurden den Hunden in den Magen eingeführt, die Hunde $^1/_2$ Stunde später zum Erbrechen gebracht, ihr Magen in der oben beschriebenen Weise ausgespült und die Tiere sofort durch Verbluten getötet; der Magen an der Cardia und am Pylorus abgebunden, herausgeschnitten, die Schleimhaut abgespült und in diesem Spülwasser der Fettgehalt bestimmt. Wir verfügen über 5 derartige Versuche, von denen je einer mit Leinöl, Schweineschmalz und Rindertalg und zwei mit Olivenöl angestellt wurden.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle I ersichtlich.

Tabelle I.

	Nummer	Versuchstier	Fett in den Magen gebracht	Fett aus dem Magen wieder gewonnen	Auf der Schleimhaut des Magens blieben haften	
			g	g	g	%
Leinöl	1	15	6,40	3,36	0,164	2,6
Olivenöl	2	13	6,35	3,62	0,121	1,9
„	3	14	5,03	2,71	0,133	2,6
Schweinefett	4	16	8,15	3,58	0,295	3,5
Rinderfett	5	17	7,43	3,57	0,352	4,8

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, daß mittels des Brechaktes nicht das gesamte Fett aus dem Magen herauszubekommen ist; es zeigt sich aber auch, daß die Fettmengen, die an der Magenschleimhaut haften bleiben, so gering sind — sie betragen 2 bis 5% —, daß sie einen kaum merklichen Fehler bedingen; einen Fehler, der zudem noch dadurch eliminiert wurde, daß wir denselben — für jede Fettart einzeln bestimmt — in den weiter unten angeführten Versuchen als Korrektur mit in Rechnung gebracht haben. Es ist von Interesse, daß bereits diese Vorversuche einen deutlichen Unterschied in dem Verhalten der verschiedenen Fette erscheinen ließen: während von dem Lein- und Olivenöl beiläufig dieselben Mengen (2 bis 5%) an der Magenschleimhaut haften blieben, war dieser Betrag bei dem Schweineschmalz, insbesondere aber beim Rindertalg weit größer.

Nach alledem können wir mit Recht behaupten, daß die von uns angewendete Methodik hinreichend verläßlich und genau war.

II.

Es wurden alles in allem an 19 Hunden Versuche angestellt, die jedoch nur an 13 Hunden — wenigstens teilweise — tadellos zu Ende geführt werden konnten; selbstredend wurden nur diese in Betracht gezogen.

Es mußten viele Versuche, in denen durch das Verhalten des Versuchstieres oder bei Einbringung der Emulsion oder beim Brechakt Fehler unterliefen, verworfen werden. An den Hunden Nr. 5, 6, 8 und 9 wurde eine ganze Anzahl von Versuchen angestellt; am Hund Nr. 5 deren 11. Am richtigsten wäre es allerdings gewesen, mit den genannten 4 Fettarten Versuche an allen Hunden anzustellen; doch war dies, wie bereits früher erwähnt, vor allem aus dem Grunde nicht möglich, weil die Hunde sich sehr rasch an das Apomorphin gewöhnten.

Es wurde für jede der 4 Fettarten bestimmt, wieviel davon den Magen

1. einige Minuten
2. $^1/_2$ Stunde
3. 1 Stunde
4. 2 Stunden

} nach Einbringung der Emulsion

verlassen hat. Diese Zeiträume konnten natürlich nur annähernd genau eingehalten werden, da ja die Wirkung des Apomorphins bald früher, bald später eintrat, daher unter „einige Minuten“ 3 bis 7 Minuten zu verstehen sind.

Mit jeder einzelnen Fettart hatten wir für jeden einzelnen der bezeichneten Zeiträume mindestens 3 Versuche angestellt, teils an demselben Hunde, teils an verschiedenen Hunden, so daß auch eine Orientierung über den Einfluß sog. individueller Schwankungen möglich war.

An den zu unseren Versuchen verwendeten 4 Fettarten, von denen 2 (Leinöl und Olivenöl) bei Zimmertemperatur flüssig waren, stellten wir je 3 Schmelzpunktbestimmungen an, deren Mittelwerte aus Tabelle II ersichtlich sind.

Tabelle II.

	Schmelzpunkt °C	Erstarrungspunkt °C
Leinöl	— 12	—
Olivenöl . . .	2,5	— 0,5
Schweinefett .	36,5	31,5
Rinderfett . .	42,8	38,5

Infolge des verschiedenen Erstarrungspunktes der genannten 4 Fette konnten ihre Emulsionen nicht bei gleicher Temperatur in den Magen eingebracht werden; so ließen sich Leinöl und Olivenöl bei Zimmertemperatur leicht emulgieren und bei 20 bis 21° C in den Magen gießen, während Emulsionen aus Schweinefett bei 30 bis 35° C, solche aus Rindertalg aber bei 41 bis 42° C bereitet und ebenso warm eingegossen werden mußten. Die Ergebnisse unserer Versuche sind in den Tabellen III bis VI zusammengestellt.

Tabelle III.

Versuche mit Olivenöl.

Nummer	Datum	Versuchstier	Wie lange war die Fettemulsion im Magen? Min.	Temperatur der Fettemulsion °C	Fett in den Magen gebracht g	Fett aus dem Magen wiedergewonnen g	Vom Fett gingen in den Darm über g	%	Mittel %
1	17. III.	2	4	21	7,26	5,47	1,79	24,6	22,3
2	19. III.	3	7	21	7,40	6,08	1,32	17,8	
3	24. III.	5	4	21	8,12	6,13	1,99	24,5	
4	26. IV.	2	32	21	7,84	3,72	4,12	52,7	43
5	27. IV.	6	32	20	5,98	3,85	2,13	35,6	
6	28. IV.	6	35	20	7,20	4,28	2,92	40,6	
7	8. V.	5	63	20	7,89	3,10	4,79	60,8	60,8
8	10. V.	5	63	20	7,84	2,65	5,19	66,2	
9	11. V.	5	64	21	7,96	3,55	4,41	55,4	
10	8. VI.	8	124	21	6,77	1,14	5,63	83,2	85
11	„	9	125	21	6,77	0,86	5,91	87,3	
12	„	10	125	21	6,77	1,05	5,72	84,5	

III.

Bevor wir an die Erörterung der Unterschiede gehen, die in dem Verhalten der verschiedenen Fettarten beobachtet werden konnten, muß auch jener Unterschiede gedacht werden, die sich bei ein und demselben Fett bei gleicher Versuchsdauer zeigten. Wohl war bei diesen Versuchen meist eine hinreichende Übereinstimmung, da ja Unterschiede von 6 bis 8% bei derartigen Versuchen kaum in Betracht kommen. Doch waren diese Unterschiede, namentlich in den ersten Perioden der mit Schweineschmalz angestellten Versuche, weit größer, so daß, um einigermaßen annehmbare Mittelwerte zu erhalten, anstatt

Tabelle IV.

Versuche mit Leinöl.

Nummer	Datum	Versuchstier	Wie lange war die Fettemulsion im Magen? Min.	Temperatur der Fettemulsion °C	Fett in den Magen gebracht g	Fett aus dem Magen wiedergewonnen g	Menge des in den Darm übergegangenen Fettes		
							g	%	Mittel %
1	22. V.	7	5	22	6,61	4,48	2,13	32,2	33,2
2	"	8	5	22	6,61	4,62	1,99	30	
3	"	9	6	21	6,61	4,07	2,54	38,4	
4	25. V.	7	33	20	7,02	4,41	2,61	39	50
5	"	8	35	21	7,02	3,22	3,80	54,1	
6	"	9	33	21	7,02	3,08	3,94	56,1	
7	26. V.	7	66	21	6,36	3,36	3,00	47,2	65,6
8	"	8	64	21	6,36	1,48	4,88	76,6	
9	"	9	64	21	6,36	1,72	4,64	72,9	
10	7. VI.	10	125	21	5,89	0,40	5,49	93	88,8
11	"	8	125	21	5,89	0,88	5,01	85	
12	"	9	124	21	5,89	0,66	5,23	88,6	

Tabelle V.

Versuche mit Schweinefett.

Nummer	Datum	Versuchstier	Wie lange war die Fettemulsion im Magen? Min.	Temperatur der Fettemulsion °C	Fett in den Magen gebracht g	Fett aus dem Magen wiedergewonnen g	Menge des in den Magen übergegangenen Fettes		
							g	%	Mittel %
1	20. III.	3	4	32	5,19	4,85	0,34	7	17,3
2	23. III.	2	4	32	5,54	4,31	1,23	22	
3	27. III.	4	5	32	7,89	6,28	1,61	20	
4	14. IV.	5	4	29	7,21	6,57	0,64	9	
5	16. IV.	5	5	31	6,57	4,31	2,26	34	
6	19. IV.	5	3	31	7,16	6,33	0,83	12	
7	1. V.	6	33	32	7,05	4,81	2,24	31,7	30
8	3. V.	6	33	34	7,08	4,84	2,24	31,6	
9	4. V.	6	31	32	7,47	5,49	1,98	26,5	
10	13. V.	5	64	35	8,30	2,81	5,49	66,2	67
11	15. V.	5	67	32	8,80	3,21	5,59	63,5	
12	19. V.	6	65	32	7,00	2,00	5,00	71,4	
13	12. V.	10	123	32	7,08	1,29	5,79	81,6	82,3
14	"	8	122	32	7,08	1,24	5,84	82,4	
15	"	9	121	32	7,08	1,20	5,87	83	

der üblichen 3 Versuche deren 6 angestellt werden mußten. In diesen Versuchen schwankten die Ergebnisse innerhalb weiter Grenzen: von dem in den Magen eingebrachten Fett gingen 7 und 34% in den Darm über. Solche großen Unterschiede kamen sonst nur noch in der Periode der Leinölversuche vor.

Diese großen Unterschiede dürften kaum von Versuchsfehlern herrühren, eher von individuellen Verschiedenheiten der motorischen Magentätigkeit.

Tabelle VI.

Versuche mit Rinderfett.

Nummer	Datum	Versuchstier	Wie lange war die Fettemulsion im Magen? Min.	Temperatur der Fettemulsion °C	Fett in den Magen gebracht g	Fett aus dem Magen wiedergewonnen g	Vom Fett gingen in den Darm über g	%	Mittel %
1	20. IV.	5	4	42	7,31	6,84	0,47	6,4	9,1
2	21. IV.	5	5	42	6,26	5,72	0,57	8,6	
3	23. IV.	6	5	42	6,25	5,48	0,77	12,3	
4	29. V.	7	33	40	6,34	4,38	1,96	30,9	31,4
5	"	8	34	41	6,34	4,69	1,65	26	
6	"	9	34	42	6,34	3,97	2,37	37,4	
7	2. VI.	7	65	41	4,19	1,80	2,39	57	61,6
8	"	8	64	41	4,19	1,43	2,76	65,8	
9	"	9	64	41	4,19	1,59	2,60	62	
10	15. VI.	10	122	42	6,91	1,53	5,38	77,9	80
11	"	8	123	42	6,91	1,40	5,51	79,7	
12	"	9	124	42	6,91	1,23	5,68	82,2	

Warum diese Unterschiede gerade beim Schweinefett zu beobachten sind, läßt sich nicht beantworten. Im allgemeinen kann man sagen, daß innerhalb einer Versuchsreihe eine um so größere Übereinstimmung vorhanden ist, je später nach erfolgter Einbringung des Fettes in den Magen die Untersuchung vorgenommen wird. (S. z. B. die 2stündigen Versuche.) Zum Teil läßt sich dies daraus erklären, daß die etwaigen analytischen Fehler um so weniger ausmachen, je mehr Fett in den Darm übergetreten ist; zum Teil aber daraus, daß individuelle Schwankungen sich namentlich anfangs geltend machen, d. i. zu einer Zeit, in der das in den Magen gelangte Fett einen Reiz auf die Magenschleimhaut auszuüben eben beginnt.

Der Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Fettarten geht am besten aus den Mittelwerten hervor, die innerhalb je einer Periode aus den betreffenden Versuchsdaten gezogen wurden. Hierfür genügt es selbstverständlich, die berechneten Prozentwerte zu vergleichen, da in allen Versuchen nahezu dieselben Fettmengen in den Magen eingebracht wurden. Die Mittelwerte sind in der letzten Kolonne der Tab. III bis VI verzeichnet; zur leichteren Übersicht haben wir sie, auf ganze Zahlen abgerundet, in der Tab. VII zusammengestellt.

Tabelle VII.

	Aus dem Magen gingen in den Darm über vom			
innerhalb eines Zeitraumes von	Leinöl (21° C) %	Olivenöl (21° C) %	Schweinefett (32° C) %	Rinderfett (42° C) %
3 bis 7 Minuten	33	22	17	9
1/2 Stunde	50	43	30	31
1 „	66	61	67	62
2 Stunden	89	85	82	80

Aus diesen Daten geht zweifellos hervor, daß die verschiedenen Fette den Magen — auch unter sonst gleichen Versuchsbedingungen — ungleich schnell verlassen. Dieser Unterschied ist am stärksten in den ersten 5 Minuten zu beobachten, während welcher vom Leinöl fast 4 mal, vom Olivenöl fast 3 mal und vom Schweineschmalz doppelt soviel in den Dünndarm übertritt als vom Rinderfett. Nach 30 Minuten ist der Unterschied bereits wesentlich kleiner; nach 1 Stunde sind von allen 4 Fettarten ca. 60% übergetreten; aber selbst nach 2 Stunden ist noch ein Unterschied insofern wahrnehmbar, als vom Leinöl am meisten (89%), vom Rinderfett am wenigsten (80%) den Magen verlassen hat. Es läßt sich im allgemeinen sagen, daß der größere Teil einer jeden der genannten 4 Fettarten ($^8/_{10}$ bis $^9/_{10}$) nach 2 Stunden in den Darm übergetreten ist.

Die verschiedene Geschwindigkeit, mit der die verschiedenen Fette den Magen verlassen, steht in engem Zusammenhange mit deren Formart (Aggregat-Zustand), resp. mit ihrem Schmelzpunkte. Das flüssige Lein- und Olivenöl verlassen den Magen anfangs viel rascher als

das breiige Schweinefett, und dieses wieder rascher als das feste Rinderfett, so daß nach Ablauf einer $^1/_2$ Stunde vom Lein- und Olivenöl etwa die Hälfte, vom Schweine- und Rinderfett aber kaum der dritte Teil in den Darm übergetreten ist. Je höher der Schmelzpunkt eines Fettes liegt, um so geringer ist die Geschwindigkeit, mit der es den Magen verläßt.

Diese Folgerung ist allerdings nur unter identischen Versuchsbedingungen zulässig, wenn also die konstatierten Unterschiede nicht etwa auf andere Ursachen zurückzuführen sind, z. B. Temperaturunterschiede. Dies ist der Fall beim Lein- und Olivenöl, die beide auf 21° C, während Schweine- und Rinderfett auf 37° resp. 42° C erwärmt eingegossen wurden. Es ist nämlich a priori nicht unmöglich, daß vielleicht die höhere Temperatur es ist, die den langsameren Übertritt der beiden letzteren Fette verschuldet. Allerdings widerspricht diese Annahme dem, was wir über den Einfluß der Temperatur auf die Darmbewegungen wissen. Anderseits haben wir uns auch durch eigene, weiter unten zu erörternde Versuche davon überzeugt, daß im Gegenteil der Übertritt der Fette in den Darm durch Erhöhung ihrer Temperatur direkt beschleunigt werden kann. Es kann daher mit Recht behauptet werden, daß die höhere Temperatur der Schweine- und Rinderfettemulsionen ihren Übertritt zumindest nicht verlangsamt hat, so daß sie bei 21° C wahrscheinlich noch langsamer entleert worden wären.

IV.

Wenn die verzögerte Entleerung des Schweine- und Rinderfettes nur oder hauptsächlich davon herrührt, daß sie nicht so flüssig oder wenigstens nicht so leicht flüssig sind wie die beiden Ölarten, so müssen sie — entsprechend erwärmt und hierdurch flüssiger gemacht — rascher als sonst in den Darm übertreten; natürlich ist diese Annahme nur in dem Falle richtig, wenn die Fette — nicht schon ohne eine Veränderung ihrer Formart oder ihrer Konsistenz — bloß durch Steigerung ihrer Temperatur rascher als sonst aus dem Magen entleert werden. Zur Klärung dieser Frage haben wir an 5 Hunden 12 Versuche angestellt: 4 mit Leinöl, 2 mit Olivenöl, 4 mit

Schweinefett und 2 mit Rinderfett. Die Leinöl- und Olivenöl-Emulsion wurden 42° C warm — also bei der Temperatur der früher verwendeten Rinderfettemulsionen — in den Magen gegossen; sodann bereiteten wir je eine 42° C und 55° C warme Emulsion aus Schweineschmalz und zwei 55° C warme Emulsionen aus Rinderfett. Bei 42° C ist das Schweineschmalz bereits flüssig, desgleichen bei 55° C der Rindertalg. Die Ergebnisse dieser Versuche sind aus Tabelle VIII ersichtlich.

Tabelle VIII.

	Nummer	Datum	Versuchstier	Wie lange war die Fettemulsion im Magen? Min.	Temperatur der Fettemulsion °C	Fett in den Magen gebracht g	Fett aus dem Magen wiedergewonnen g	Vom Fett gingen in den Darm über g	%	Mittel %
Leinöl	1	14. XII.	18	33	42	9,21	4,74	4,47	48,6	51,6
	2	„	19	34	42	9,21	4,18	5,03	54,6	
	3	19. VI.	10	65	42	6,72	2,05	4,67	70	68,5
	4	„	11	64	42	6,72	2,28	4,44	67	
Olivenöl	5	14. VI.	10	32	42	6,43	3,43	3,00	46,7	49,8
	6	„	11	33	42	6,43	3,04	3,39	52,8	
Schweinefett	7	17. VI.	10	33	42	8,24	3,32	4,92	59,7	60,5
	8	„	11	33	42	8,24	3,19	5,05	61,3	
	9	17. XII.	18	33	55	9,16	3,93	5,23	57,1	61
	10	„	19	33	55	9,16	3,22	5,94	64,9	
Rinderfett	11	6. X.	12	34	55	7,71	3,20	4,51	58,6	54,8
	12	13. X.	12	33	55	7,18	3,62	3,56	51	

Wie den Daten dieser Tabelle zu entnehmen ist, wurden in der Regel nur ½stündige, mit dem Leinöl auch 1stündige Versuche angestellt und in den Parallelversuchen hinreichend übereinstimmende Werte erhalten. Zur besseren Übersicht sind die bei verschiedenen Temperaturen erhaltenen Mittelwerte in Tabelle IX zusammengestellt.

Das Resultat ist, wie man sieht, ein recht interessantes. Das Leinöl verließ den Magen — wenn es auch um 20° wärmer eingegossen wurde — nicht schneller als bei 21° C. Um so auffallender ist der Unterschied beim Schweineschmalz und Rinderfett. Durch die Erhöhung der Temperatur der Schweineschmalzemulsion von 32 auf 42° C wurde die Entleerungsgeschwindig-

keit verdoppelt; nahezu dasselbe fand beim Rindertalg statt, als die Emulsion von 47 auf 55° C erhöht wurde. Es hatte daher die Temperaturerhöhung der aus Ölen bereiteten Emulsionen keinerlei Einfluß auf deren Entleerungsgeschwindigkeit; wohl aber erfuhr diese eine sehr bedeutende Beschleunigung bei den festen Fetten.

Tabelle IX.

In $^1/_2$ Stunde gingen aus dem Magen in den Darm über vom								
Leinöl		Olivenöl		Schweinefett			Rinderfett	
wenn die Temperatur der Emulsion beim Eingießen war								
21° C	42° C	21° C	42° C	32° C	42° C	55° C	42° C	55° C
50%	51%	43%	50%	30%	60%	61%	31%	55%

Es scheint, daß eine raschere Entleerung der festen Fette durch die Temperatursteigerung nur dann erfolgt, wenn sie gleichzeitig von einer Veränderung (ihres Aggregatzustandes) ihrer Formart oder ihrer Konsistenz begleitet ist.

Die Schweineschmalzemulsionen wurden 37° C warm eingegossen; also bei einer Temperatur, die ihrem Erstarrungspunkt nahezu genau entspricht; bei Erwärmung der Emulsion um weitere 10 bis 15° C werden sie flüssiger und verlassen den Magen auch viel rascher; beiläufig so schnell, wie die aus Öl bereiteten Emulsionen. Eine weitere Erhöhung der Temperatur dieser Emulsion, z. B. von 42 auf 55° C, blieb ohne Wirkung auf die Entleerungsgeschwindigkeit. Dasselbe Resultat erhielten wir, wie erwähnt, mit den Emulsionen aus Leinöl, die bei 42° C nicht rascher (68% nach 1 Stunde) als bei 21° C (66% nach 1 Stunde) den Magen verließen.

Nun sehen wir aber weiter, daß Leinöl und Olivenöl, die beide schon bei Zimmertemperatur, und noch mehr bei der Temperatur des Mageninneren, gleich flüssig sind, und doch mit verschiedener Geschwindigkeit den Magen verlassen. Leinöl wird rascher entleert als Olivenöl. Hier kann es sich nicht um eine Verschiedenheit der Formart handeln, wie bei Schweineschmalz und Rindertalg, sondern um die Veränderung einer physikalischen Eigenschaft, die bei Erhöhung der Temperatur ohne eine weitere Änderung der Formart stattfindet. Eine solche Eigenschaft ist die Viscosität.

Da es sich denken ließ, daß die in der Emulsion enthaltenen Fetttröpfchen je nach ihrer geringeren oder größeren Viscosität der Schleimhaut mehr oder minder stark anhaften, war es einerseits von Interesse, die Viscosität der betreffenden Fettarten bei den Temperaturen, in denen sie in den Magen eingebracht wurden, zu bestimmen, andererseits auch festzustellen, wie sich ihre Viscosität bei den in unseren Versuchen gegebenen verschiedenen Temperaturen ändert. Siehe Tabelle X.

Tabelle X.

	21° C		32° C		42° C		55° C	
	Abflußzeit	η	Abflußzeit	η	Abflußzeit	η	Abflußzeit	η
Dest. Wasser	20,7″	1	18,3″	1	14,7″	1	13,2″	1
Leinöl . . .	15′ 2,4″	40,7	11′ 4,8″	33,7	7′ 29,1″	28,3	5′ 32,4″	23,2
Olivenöl . .	29′ 24,8″	78,9	15′ 49,6″	47,2	10′ 26,7″	38,7	8′ 1,6″	33
Schweinefett	—	—	19′ 17,6″ (36° C)	58,3	12′ 21″	46,3	8′ 52,2″	36,8
Rinderfett .	—	—	—	—	13′ 15,6″	49,5	8′ 52,8″	36,3

$$\eta = \eta_1 \frac{s\,t}{s_1\,t_1}$$

η_1 = Viscosität des destillierten Wassers = 1; s = spezifisches Gewicht des Öles bzw. Fettes; s_1 = spezifisches Gewicht des Wassers; t und t' = Abflußzeit des Öles bzw. Wassers.

Aus diesen Versuchen geht in der Tat hervor, daß die Viscosität des Leinöls, das nach unseren Versuchen den Magen am schnellsten verläßt, bei jeder Temperatur am geringsten ist; weiterhin, daß die Entleerungsgeschwindigkeit der Fette im umgekehrten Verhältnis mit ihrer Viscosität steht. So entleert sich Rindertalg, dessen Viscosität den höchsten Wert in der Reihe aufweist, am langsamsten; andrerseits nimmt seine Viscosität unter gleichzeitiger Zunahme seiner Entleerungsgeschwindigkeit mit Erhöhung der Temperatur deutlich ab. Dasselbe ist beim Schweinefett der Fall.

Die Viscosität des Leinöls wird durch Erhöhung der Temperatur viel weniger gesteigert als die des Olivenöls; dementsprechend wurde bei höherer Temperatur jenes kaum rascher, dieses merklich rascher entleert.

Aus nachfolgender Zusammenstellung ist noch eine weitere Tatsache zu ersehen:

	Temperatur	Viscosität	Innerhalb $^1/_2$ Std. aus dem Magen entleert
Leinöl	21° C	40,7	50%
Olivenöl	42° C	38,7	50%
Schweineschmalz	55° C	36	61%
Schweineschmalz	32° C	58,0	30%
Rindertalg	42° C	49,5	31%

nämlich, daß die verschiedenen Fette, wenn man sie durch geeignete Änderung ihrer Temperatur auf einen gleichen Viscositätsgrad bringt, den Magen im großen und ganzen gleich schnell verlassen.

Dabei ist allerdings vor Augen zu halten, daß die Temperatur der in den Magen eingebrachten Emulsionen selbstredend nicht wie bei den Viscositätsbestimmungen konstant bleibt; wäre dies der Fall, so würde der erwähnte Parallelismus vielleicht noch mehr augenfällig sein.

Nach alledem können wir mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Entleerungsgeschwindigkeit der flüssigen Fette aus dem Magen in erster Linie von ihrer Viscosität abhängt.

Es müssen aber auch noch andere Momente mit im Spiele sein, die erst durch weitere Versuche geklärt werden können; denn die Viscosität des Schweineschmalzes nimmt, wenn dieses von 42° auf 55° C erwärmt wird, in demselben Maße und fast um denselben absoluten Wert ab, wie die des Rinderfettes; — und doch sehen wir beim Schweineschmalz keinerlei Steigerung, beim Rindertalg aber eine Verdoppelung seiner Entleerungsgeschwindigkeit.

Den Einfluß der Viscosität auf die Entleerungsgeschwindigkeit können wir uns am einfachsten so erklären, daß die Fette mit größerer Viscosität an der Magenschleimhaut stärker haften. Es war jedoch nicht statthaft, dies direkt aus unseren Viscositätsbestimmungen zu folgern, nicht nur weil es sich hier um Glas, dort um die Magenschleimhaut handelt, denen ein und dasselbe Fett ganz verschieden stark anhaften kann; sondern auch, weil die Viscositätsbestimmungen mit dem reinen Fett, die Magenversuche aber mit den betreffenden Emulsionen angestellt wurden.

Wir mußten also in weiteren Versuchen prüfen, ob die viscöseren Fette in dispergiertem Zustande, in Emulsionen, der Magenschleimhaut in der Tat stärker anhaften.

Obzwar die in Tabelle I (S. 98) zusammengestellten Kontrollversuche Zeugnis davon gaben, daß an der Magenschleimhaut der Tiere, nachdem sie ihren Mageninhalt durch Erbrechen entleert hatten, vom Leinöl am wenigsten, vom Rindertalg am meisten haften blieb: fanden wir es doch für angezeigt, diese Frage durch folgende Versuche genauer zu prüfen.

Von der abpräparierten Magenschleimhaut eines frisch getöteten Hundes werden vier, je ca. 2 ccm große Stücke herausgeschnitten, jedes Stück mittels eines Platindrahtes 10 Minuten lang in 50 ccm der betreffenden Emulsionen hineingehängt und nach dem Herausziehen 1 Minute lang abtropfen gelassen.

Das Gewicht der Emulsionen haben wir vor und nach dem Versuche (nach dem Abtropfenlassen des Schleimhautstückchens) auf der analytischen Wage genau gewogen. Um weiter zu erfahren, wieviel die Emulsion während des Versuchs an Wasserdampf verloren hat, wurden in ein gleich großes Kontrollgefäß von derselben Emulsion 50 ccm gegossen und der Gewichtsverlust am Ende des Versuchs bestimmt. Dieser Gewichtsverlust wurde dann als Korrektur in Betracht gezogen. Die Temperatur der Emulsionen betrug jedesmal 42° C. Die Ergebnisse dieser Versuche enthält Tabelle XI.

Tabelle XI.

	Gewicht von 50 ccm Emulsion	Von der Emulsion blieben an der Schleimhaut haften	
	g	g	%
Leinöl	53,345	0,384	0,72
Olivenöl	53,777	0,622	1,18
Schweinefett	52,810	0,742	1,41
Rinderfett	53,129	0,980	1,85

Wie ersichtlich, stehen diese Ergebnisse in vollem Einklang mit den in Tabelle I verzeichneten Versuchen: Rinderfett haftet der Magenschleimhaut am stärksten, Leinöl am wenigsten an, also genau der Reihenfolge ihrer Viscosität entsprechend.

Aus unsern Versuchen geht demnach zweifellos hervor, daß auch die emulgierten, also fein verteilten Fette nach Maßgabe ihres Schmelzpunktes und ihrer Viscosität den Magen mit verschiedener Geschwindigkeit, und zwar um so langsamer verlassen, je höher ihr Schmelzpunkt liegt und je größer ihre Viscosität ist.

Mit diesen Versuchen ist aber die eingangs aufgeworfene Frage noch nicht erschöpfend beantwortet. So wäre vor allem weiter zu prüfen, ob die nicht emulgierten Fette (wie sie, den verschiedenen Speisen beigemengt, in den Magen gelangen) sich ähnlich verhalten, was allerdings recht wahrscheinlich ist.

Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß die ermittelten Unterschiede in dem Verhalten verschiedener Fette neben dem theoretischen auch ein praktisches Interesse bieten; sie erklären die den Ärzten bereits längst bekannte Tatsache, daß Magenleidende die niedriger schmelzenden Fette (Butter) besser vertragen als die höherschmelzenden (Schweineschmalz), was möglicherweise auch noch damit zusammenhängen kann, daß die letzteren, da sie länger im Magen verweilen, auch eine erhöhte Leistung des Magens erheischen.

Über den Einfluß der intravenösen Bluttransfusion auf den Stoff- und Energieumsatz.

Von

Paul Hári.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und physiologische Chemie der Universität Budapest. Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

In einer im Jahre 1909 veröffentlichten Arbeit hatte D. Fuchs[1]) als Folgen eines größeren Blutverlustes gefütterter Hunde — von einem bloß 1 bis 2 Tage lang andauerndem vermehrtem Eiweißzerfall abgesehen — einen wochenlang andauernden Eiweißansatz nachgewiesen und diesen als Ausdruck einer früh einsetzenden Regeneration des Blutes gedeutet.

Andererseits habe ich[2]) in den ersten 4 bis 6 Tagen nach dem Blutverluste eine Erhöhung der Wärmeproduktion gefunden, die auf Mehrzersetzung von Fett beruht und als Ausdruck der bei der Regeneration des Blutes geleisteten Arbeit des Organismus aufzufassen ist.

Als Gegenstück hierzu war es von Interesse zu prüfen, welche Veränderungen im Eiweiß- und Fettstoffwechsel sowie in der Wärmeproduktion beim Hunde eintreten, wenn die Menge seines Blutes durch Transfusion arteigenen Blutes erhöht wird; denn wenn es auch durch die Mehrzahl der weiter unten zu erwähnenden Arbeiten als erwiesen erachtet werden muß, daß das transfundierte arteigene Blut sich im Kreislauf

---

[1]) Dionys Fuchs, Über den Einfluß großer Blutverluste auf den Eiweiß- und Energieumsatz. Arch. f. d. ges. Physiol. 130, 156, 1909.

[2]) Paul Hári, Der Einfluß großer Blutverluste auf die Kohlensäure- und Wasserausscheidung und Wärmeproduktion. Arch. f. d. ges. Physiol. 130, 177, 1909.

des Empfängers nach Art eines transplantierten Gewebes verhält, also seiner größten Menge nach für lange Zeit unversehrt erhalten bleibt, war es doch denkbar, daß die Überschwemmung des Tierkörpers mit arteigenem Eiweiß eine Änderung der Stoffzersetzung in dem Sinne zur Folge habe, daß der Organismus von dem ihm nun reichlicher zu Gebot stehendem Eiweiß mehr, vom Fett hingegen weniger zersetzt, daß es demnach zu einer Fettsparung auf Kosten von Eiweiß käme, als Gegenstück zur Eiweißsparung auf Kosten von Fett, wie D. Fuchs und ich es nach größeren Blutverlusten eintreten sahen.

Versuchsanordnung und Methodik.

Zweck dieser Arbeit war, an Hunden — vor und nach vorgenommener direkter Transfusion aus einem anderen Hunde — neben dem N — auch den gesamten C — und auch den Energieumsatz zu bestimmen und aus diesen Daten — unter Vernachlässigung des Glykogens — einerseits den Eiweiß- und Fettumsatz, andererseits auch die Wärmeproduktion zu berechnen, fernerhin die letztere auch auf dem Wege der direkten Calorimetrie nach Rubner zu bestimmen. Meine Untersuchungen erstreckten sich auf 6 Versuchsreihen, die an 4 hungernden und einem gefütterten Hunde angestellt wurden. Die Tiere wurden, mit Ausnahme der Tage, an denen Respirationsversuche stattfanden, in Stoffwechselkäfigen gehalten, die ein genaues Sammeln der Excrete gestatteten.

Nach einer angemessenen Beobachtungsdauer wurde die Transfusion in die frei präparierte Jugularvene direkt aus der Carotis eines anderen Hundes vorgenommen, wobei, wie dies Geelmuyden ausführlich beschrieben hatte, das empfangende Versuchstier auf einer Dezimalwage lag, so daß die Menge des transfundierten Blutes ziemlich genau dosiert werden konnte.

Der Transfusion wurde kein Aderlaß vorausgeschickt.

In der Versuchsreihe 1 bis 5 haben die Hunde gehungert; in Versuchsreihe 6 erhielten sie ein Futtergemisch, das für Wochen hindurch von vorneherein, in genau gleiche Portionen geteilt, aufbewahrt wurde. Die Abgrenzung des Harns erfolgte durch Katheterisierung und nachfolgende Auswaschung der Blase mit 1%iger Lösung von Borsäure, in jeder Versuchs-

reihe meistens am Beginn jeden Versuchstages, manchmal bloß jeden 2 Tag.

Die Abgrenzung des Kotes erfolgte mittels Kieselsäure, die — mit Wasser angerührt — dem Tiere durch die Schlundsonde beigebracht wurde. Der N des Harns wurde täglich, der des Spülwassers (aus Käfig und Calorimeter) in Absätzen von mehreren Tagen nach Kjeldahl mit metallischem Hg als Katalysator bestimmt; desgleichen der N der Futtermittel und des Kotes in der Versuchsreihe 6.

Die Bestimmung des C geschah auf nassem Wege mit konz. Schwefelsäure und doppeltchromsaurem Kali nach dem Brunner-Messinger-Scholzschen[1]) Verfahren. Die Bestimmung des Gehaltes an chemischer Energie im Harn, ferner in Versuchsreihe 6 auch im Futter und im Kot erfolgte durch Verbrennung in einer modifizierten Berthelot-Mahlerschen Bombe; für den Energieverlust, den der Harn beim Eintrocknen erlitt, wurde nach Rubner pro 1 g fehlendem N 5,4 Cal. in Rechnung gebracht.

In den Versuchsreihen 1 bis 5 wurden von Zeit zu Zeit Respirationsversuche von 20 bis 22stündiger Dauer im Rubnerschen Respirations-Calorimeter sowohl vor als nach der Transfusion vorgenommen, so zwar, daß zwischen je 2 Versuchen bald eine Pause von bloß 3 bis 5 Stunden, bald eine solche von 1 bis 2 Tagen fiel.

Beschreibung der Versuche.

Versuchsreihe 1.

Dem Hunde „A" wurde die Nahrung am 20. I. 1909 entzogen; Wasser aber bekam er täglich ad libitum zu trinken. Am 29. I. erhielt das Tier durch die Jugularvene 85 g (d. i. 25,9 pro 1 kg Körpergewicht) Blut unmittelbar aus der Carotis eines anderen Hundes transfundiert. Eine Stickstoffbestimmung im transfundiertem Blute wurde nicht vorgenommen. Nach Abbruch des Versuchs wurde der Hund wieder gefüttert und dann zu andern Versuchen verwendet.

Versuchsreihe 2.

Hund „B" begann am 28. II. 1909 zu hungern; Wasser konnte er nach Belieben trinken. Am 5. III. wurden ihm in die Jugularvene 110 g (d. i. 20,5 pro 1 kg Körpergewicht) Blut aus der Carotis eines anderen

[1]) F. Tangl und G. Kereszty, Bioch. Zeitschr. 32, 266.

Hundes transfundiert. Das Blut enthielt 3,42 % Stickstoff. Unmittelbar nach der Operation hatte sich an der genähten Hautstelle ein subcutanes Hämatom gebildet, aus dem im Verlauf von 10 Minuten ca. 10 ccm, dann aber gar kein Blut mehr sickerte. Nach Abbruch der Versuche wurde das Tier gefüttert und anderwärts verwendet.

Versuchsreihe 3.

Dem Hunde „C" wurde die Nahrung am 20. III. nachmittags entzogen; am Beginn eines jeden Versuchstages wurden ihm 150 ccm Wasser vorgesetzt, die er restlos austrank. Am 25. III. morgens wurden dem Tiere durch die Jugularis 141 g Blut (d. i. 24,8 g pro 1 kg Körpergewicht) aus der Carotis eines anderen Hundes transfundiert. Das transfundierte Blut enthielt 4,14 % Stickstoff. Die N-Bestimmungen wurden bis inkl. 2. IV. fortgesetzt; an diesem Tage öffnete sich eine eiterige Beule am rechten Hinterfuße, wodurch dem Harn Blut und Eiter beigemengt ward. Das Tier wurde nun weiter gefüttert, verendete aber am 14. IV., ohne daß die Wunde geheilt war.

Versuchsreihe 4.

Hund „D" begann am 11. IV. zu hungern; nach 2 mißlungenen Respirationsversuchen bekam er am 17. und 18. IV. nachmittags je 1 Liter Milch zu trinken; von da ab hungerte er weiter, bekam aber vor jedem Respirationsversuche 150 ccm, nach jedem Respirationsversuche 300 ccm Wasser, das er restlos austrank. Am 24. IV. wurden dem Tiere durch die Jugularvene 171 g (d. i. 20,2 g pro 1 kg Körpergewicht) Blut aus der Carotis eines anderen Hundes transfundiert und es dann weiter hungern gelassen. Das transfundierte Blut enthielt 2,54 % Stickstoff.

Versuchsreihe 5.

Der nunmehr seit nahezu 4 Wochen hungernde Hund „D" der vorangehenden Versuchsreihe 4 erhielt in dieser Versuchsreihe zu Beginn eines jeden Respirationsversuches 126, am Schluß derselben 260 g Wasser. Am 14. V., also etwa 3 Wochen nach der ersten Transfusion, wurden ihm durch die andere Jugularvene 262 g (d. i. 43,5 g pro 1 kg Körpergewicht) Blut aus der Carotis eines anderen Hundes transfundiert. Das transfundierte Blut enthielt 3,76 % Stickstoff. Als das Tier am 18. V. blutigen Kot zu entleeren begann, wurden die Versuche abgebrochen. Nachdem das Tier am 21. V. einging, wurde bei der Sektion ein scharfrandiges Magengeschwür als Ursache der blutigen Entleerungen gefunden.

Versuchsreihe 6.

Hund „E" wurde vom 20. III. 1909 angefangen mit einem Gemisch gefüttert, das aus 60 g Fattingerschem Hundefutter und je 25 g Fleischmehl und Rohrzucker bestand. Das Futter, von dem für die ganze Beobachtungsdauer gleiche Portionen vorher abgewogen wurden, hatte die in Tabelle I verzeichnete Zusammensetzung.

Tabelle I.

	Enthalten in 100 g			Enthalten in			
	Fattingers Hundefutter	Fleischmehl	Rohrzucker	60 g Fattingers Hundefutter	25 g Fleischmehl	25 g Rohrzucker	Zusammen
N	3,00 g	12,95 g	—	1,80 g	3,24 g	—	5,04 g
C	40,13 g	49,87 g	42,12 g	24,08 g	12,47 g	10,53 g	47,08 g
Chem. Energie	418,28 kg-cal.	555,69 kg-cal.	398,78 kg-cal.	250,97 kg-cal.	138,92 kg-cal.	99,69 kg-cal.	489,58 kg-cal.

Dem Hunde wurden am 6. IV. 1909 durch die Jugularvene 92 g (d. i. 17,6 g pro 1 kg Körpergewicht) Blut aus der Carotis eines anderen Hundes transfundiert. Das transfundierte Blut enthielt 3,73 % Stickstoff.

Die zahlenmäßigen Ergebnisse der Versuche enthalten die Tabellen II bis XII.

Tabelle II[1]).

N-Ausscheidung im Harn. (Versuchsreihe 1, 2 und 3.)

Versuchsreihe	Datum des Versuchs	Wievielter Hungertag	N im Harn täglich g	N im Harn pro 1 kg Körpergewicht g	Körpergewicht g	Anmerkung (R = Respirationsversuch)
	1909					
1	26.—27. I.	6.	1,27	0,362	3499	R
	27.—28. „	7.	1,27	0,373	3398	
	28.—29. „	8.	1,34	0,400	3351	R
	....	....	....	....	....	....
	29.—30. I.	9.	1,20	0,357	3360	R
	30.—31. „	10.	1,10	0,334	3289	R
2	3.— 4. III.	3.	2,66	0,888	5454	R
	4.— 5. „	4.	2,94	0,542	5428	R
	....	....	....	....	....	....
	5.— 6. III.	5.	2,56	0,468	5467	R
	6.— 7. „	6.	2,12	0,392	5398	R
	7.— 8. „	7.	1,96	—	—	
	8.— 9. „	8.	2,40	—	—	
	9.—10. „	9.	1,74	—	—	
	10.—11. „	10.	1,89	—	—	
	11.—12. „	11.	1,89	—	—	
3	22.—23. „	3.	2,67 }	0,415	6432	R
	23.—24. „	4.	2,67 }	0,432	6175	R
	24.—25. „	5.	2,70	—	—	
	....	....	....	....	....	....
	25.—26. III.	6.	3,16 }	0,531	5951	R
	26.—27. „	7.	3,16 }	—	—	
	27.—28. „	8.	2,82 }	0,490	5755	R
	28.—29. „	9.	2,82 }	—	—	
	29.—30. „	10.	2,82	—	—	
	30.—31. „	11.	2,47	0,458	5396	
	31. III.–1. IV.	12.	1,86	—	—	
	1.—2. IV.	13.	2,24	0,431	5197	

[1]) Die punktierte Linie trennt die Versuche vor und nach der Transfusion.

Tabelle III.

N-Ausscheidung im Harn. (Versuchsreihen 4 und 5.)

Datum des Versuchs	Wievielter Hunger-tag	N im Harn täglich g	Körpergewicht am Beginn des Versuchs g	Anmerkung (R = Respirationsversuch)
20.—21. IV. 1909	2.	1,76	9463	R
21.—22. IV.	3.	2,10	9001	
22.—23. „	4.	1,85	8870	R
23.—24. „	5.	2,22	8450	
24.—25. IV.	6.	2,26	8615	R
25.—26. „	7.	2,59	8247	
26.—27. „	8.	2,51	8328	R
27.—28. „	9.	2,83	8024	
28.—29. „	10.	2,63	7931	
29.—30. „	11.	2,71 }	7883	
30. IV.—1. V.	12.	2,71 }	—	
1.— 2. V.	13.	2,80 }	7776	
2.— 3. „	14.	2,80 }	—	
3.— 4. „	15.	2,98 }	7600	
4.— 5. „	16.	2,98 }	—	
5.— 6. „	17.	2,89 }	7433	
6.— 7. „	18.	2,89 }	—	
7.— 8. „	19.	2,94	7262	
8.— 9. „	20.	3,21 }	7025	
9.—10. „	21.	3,21 }	—	
10.—11. „	22.	3,62	6885	R
11.—12. „	23.	3,97	6724	
12.—13. „	24.	3,24	6640	R
13.—14. „	25.	4,21	6495	
14.—15. „	26.	2,93	6637	R
15.—16. „	27.	5,44	6435	

Tabelle IV.

N-Ausscheidung im Harn. Mittelwerte von je 2 Tagen.
(Versuchsreihen 4 und 5.)

Datum des Versuchs	Wievielter Hungertag	N im Harn täglich g	N im Harn täglich pro 1 kg Körpergewicht g
20.—22. IV. 1909	2. u. 3.	1,93	0,209
22.—24. IV.	4. „ 5.	2,03	0,236
24.—26. IV.	6. u. 7.	2,42	0,288
26.—28. „	8. „ 9.	2,67	0,327
28.—29. „	10.	2,63	0,332
29. IV.—1. V.	11. u. 12.	2,71	0,344

Tabelle IV (Fortsetzung).

Datum des Versuchs	Wievielter Hungertag	N im Harn täglich g	N im Harn täglich pro 1 kg Körpergewicht g
1.— 3. V.	13. u. 14.	2,80	0,360
3.— 5. „	15. „ 16.	2,98	0,392
5.— 7. „	17. „ 18.	2,89	0,389
7.— 8. „	19.	2,94	0,405
8.—10. „	20. u. 21.	3,21	0,457
11.—12. „	22. „ 23.	3,79	0,558
12.—14. „	24. „ 25.	3,72	0,568
14.—16. V.	26. u. 27.	4,19	0,643

Tabelle V.

N-Ausscheidung pro 24 Stunden.

(Versuchsreihe 6.)

Datum des Versuchs	Wievielter Versuchstag	N im Harn täglich g	N im Kot täglich g	N zusammen täglich g	Körpergewicht am Beginn des Versuchs g	Anmerkung (R = Respirationsversuch)
1909						
21.—28. IV.	1.—7.	5,24	0,62	5,86	5600	
28.—29. „	8.	5,07	0,66	5,73	5208	R
29.—30. „	9.	5,29	0,66	5,95	5185	
30. IV.—1. V.	10.	4,87	0,66	5,53	5113	R
1.— 2. V.	11.	5,43	0,66	6,09	5073	
2.— 3. „	12.	5,78	0,66	6,44	4999	
3.— 4. „	13.	5,49	0,66	6,15	4977	
4.— 5. „	14.	4,71	0,66	5,37	4977	R
5.— 6. „	15.	5,32	0,66	5,98	4926	
6.— 7. V.	16.	4,81	0,72	5,53	5008	R
7.— 8. „	17.	5,96	0,72	6,68	4987	
8.— 9. „	18.	5,00	0,72	5,72	4930	R
9.—10. „	19.	6,09	0,62	6,71	4921	
10.—11. „	20.	6,46	0,62	7,08	4843	
11.—12. „	21.	6,86	0,62	7,48	4814	
12.—13. „	22.	6,86	0,62	7,48	—	
13.—14. „	23.	6,74	0,62	7,36	4789	
14.—15. „	24.	6,74	0,62	7,36	—	
15.—16. „	25.	7,14	0,62	7,76	4720	
16.—17. „	26.	7,14	0,62	7,76	—	
17.—18. „	27.	7,02	0,62	7,64	4596	

Tabelle VI.

N-Ausscheidung im Harn und Kot. Mittelwerte von je 2 Tagen.
(Versuchsreihe 6.)

Datum des Versuchs	Wievielter Hungertag	N im Harn täglich g	N im Harn pro 1 kg Körpergewicht täglich g	N im Harn und Kot täglich g
21.—28. IV. 1909	1. bis 7.	5,24	0,936	5,86
28.—30. IV.	8. u. 9.	5,18	0,997	5,84
30. IV.—2. V.	10. „ 11.	5,15	1,011	5,81
2.— 3. V.	12.	5,18	1,156	6,44
3.— 4. „	13.	5,49	1,103	6,15
4.— 6. „	14. u. 15.	5,01	1,004	5,67
6.— 8. V.	16. u. 17.	5,38	1,077	6,10
8.—10. „	18. „ 19.	5,54	1,126	6,22
10.—11. „	20.	6,46	1,333	7,08
11.—13. „	21. u. 22.	6,86	1,425	7,48
13.—15. „	23. „ 24.	6,74	1,407	7,36
15.—17. „	25. „ 26.	7,14	1,512	7,76
17.—18. „	27.	7,02	1,527	7,64

Tabelle VII.

Respirationsversuche.

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	Datum des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs St.	Ventilation pro 24 St. cm	Temperatur des Tierraumes °C	Körpertemperatur des Tieres am Beginn des Versuchs °C	Körpertemperatur des Tieres am Ende des Versuchs °C	Körpergewicht am Beginn des Versuchs g	Körpergewicht am Ende des Versuchs g	Anmerkung
			1909									
1	1	6.	26.—27. I.	$4^h 10'$ Nm	18,6	32,1	26,7	39,5	38,4	3499	3417	
1	2	8.	28.—29. „	$3^h 57'$ „	19,5	31,2	26,7	38,7	37,9	3351	3262	
1	3	9.	29.—30. I.	$3^h 47'$ Nm	20,0	30,1	26,7	38,4	38,5	3360	3267	12h mittags Transfusion von 85 g Blut; d. i. 25,9 g Blut pro 1 kg Körpergewicht
1	4	10.	30.—31. „	$3^h 52'$ „	18,5	30,2	26,7	38,5	38,6	3289	3205	
2	5	3.	3.—4. III.	$4^h 35'$ Nm	18,5	36,8	26,7	38,7	38,4	5454	5260	
2	6	4.	4.—5. „	$4^h 45'$ „	18,5	34,5	26,7	38,5	38,7	5428	5229	
2	7	5.	5.—6. III.	$4^h 34'$ Nm	18,5	34,1	26,8	38,7	38,4	5467	5249	4h nachm. Transfusion von 110 g Blut; d. i. 20,5 g Blut pro 1 kg Körpergewicht
2	8	6.	6.—7. „	$4^h 44'$ „	18,5	34,1	26,8	38,6	38,7	5398	5263	
3	9	3.	22.—23. III.	$5^h 04'$ Nm	17,33	36,4	26,9	38,5	38,7	6432	6116	
3	10	4.	23.—24. „	$5^h 46'$ „	21,75	35,3	26,9	38,0	39,3	6175	5857	
3	11	6.	25.—26. III.	$10^h 03'$ Vm	22,25	36,5	26,8	39,0	39,2	5951	5685	9h vorm. Transfusion von 141 g Blut; d. i. 24,3 g Blut pro 1 kg Körpergewicht
3	12	7.	26.—27. „	$5^h 13'$ Nm	23,00	36,3	26,8	38,0	39,2	5755	5514	
3	13	11.	30.—31. „	$4^h 50'$ „	23,66	36,4	26,9	38,0	40,0	5396	5129	

Tabelle VII (Fortsetzung).

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	Datum des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs St.	Ventilation pro 24 St. cm	Temperatur des Tierraumes °C	Körpertemperatur des Tieres: am Beginn des Versuchs °C	Körpertemperatur des Tieres: am Ende des Versuchs °C	Körpergewicht: am Beginn des Versuchs g	Körpergewicht: am Ende des Versuchs g	Anmerkung
4	14	2.	20.—21. IV.	10h 19′ Vm	24,0	41,7	26,8	39,7	38,9	9463	8851	
	15	4.	22.—23. „	10h 21′ „	23,75	43,1	26,9	39,0	38,5	8870	8300	
	16	6.	24.—25. IV.	12h 27′ Vm	21,50	41,9	26,9	38,8	39,5	8615	8097	11h 30′ vorm. Transfusion von 171 g Blut; d. i. 20,2 g Blut pro 1 kg Körpergewicht
	17	8.	26.—27. „	10h 52′ „	23,75	41,9	27,0	38,9	38,8	8328	7874	
5	18	22.	10.—11. V.	10h 47′ Vm	23,75	41,6	26,9	36,6	38,0	6885	6574	
	19	24.	12.—13. „	10h 57′ „	23,75	41,5	26,8	37,7	38,1	6640	6345	
	20	26.	14.—15. V.	11h 44′ Vm	21,0	40,8	26,8	37,6	37,9	6637	6285	11h vorm. Transfusion von 262 g Blut; d. i. 43,5 g Blut pro 1 kg Körpergewicht
* Beobachtungstag:												
6	21	8.*	28.—29. IV.	11h 22′ Vm	21,0	35,1	26,9	38,2	38,5	5518	5185	
	22	10.	30. IV.—1. V.	11h 23′ „	21,7	34,2	26,8	38,7	37,8	5404	5073	
	23	14.	4.—5. V.	10h 47′ „	21,7	35,5	26,9	38,4	37,9	5226	4926	
	24	16.	6.—7. V.	10h 25′ Vm	21,8	35,1	26,9	38,7	38,1	5318	4987	9h 30′ vorm. Transfusion von 92 g Blut; d. i. 17,6 g Blut pro 1 kg Körpergewicht
	25	18.	8.—9. „	10h 47′ „	21,7	35,4	26,8	38,0	38,2	5240	4921	

Tabelle VIII.

CO_2-Produktion und H_2O-Ausscheidung; N-, C- und Energieausgaben im Harn und Kot pro 24 Stunden.

(Versuchsreihen 1 bis 6.)

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	Mit der Ventilationsluft abgeführt: CO_2 g	Mit der Ventilationsluft abgeführt: H_2O g	Wasser im Harn g	Gesamte Wasserabgabe g	N-Ausfuhr: im Harn g	N-Ausfuhr: im Kot g	N-Ausfuhr: zusammen g	C-Ausfuhr: im Harn g	C-Ausfuhr: im Kot g	C-Ausfuhr: in der exspir. CO_2 g	C-Ausfuhr: Gesamte C-Ausgaben g	Chem. Energiegehalt des Harns kg-cal.	Cal. / N
1	1	6.	57,69	73,82	?	?	1,27	—	1,27	1,10	—	15,73	16,83	14,60	13,3
	2	8.	54,34	72,21	29,0	101,21	1,34	—	1,34	1,32	—	14,64	15,96	13,56	10,3
	3	9.	55,12	61,51	36,5	98,01	1,20	—	1,20	1,18	—	15,03	16,21	11,05	9,4
	4	10.	49,18	60,90	29,0	89,90	1,10	—	1,10	0,94	—	13,41	14,35	10,19	10,8
2	5	3.	102,67	140,60	99,6	240,20	2,66	—	2,66	1,90	—	28,00	29,90	20,39	7,7
	6	4.	100,64	133,59	115,3	248,89	2,94	—	2,94	2,00	—	27,45	29,45	21,40	7,3
	7	5.	91,56	117,37	93,4	210,77	2,56	—	2,56	1,83	—	24,97	26,80	18,43	7,2
	8	6.	90,83	119,16	92,3	211,46	2,12	—	2,12	1,81	—	24,77	26,58	14,54	6,8

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	Mit der Ventilationsluft abgeführt CO_2 g	Mit der Ventilationsluft abgeführt H_2O g	Wasser im Harn g	Gesamte Wasserabgabe g	N-Ausfuhr im Harn g	N-Ausfuhr im Kot g	N-Ausfuhr zusammen g	C-Ausfuhr im Harn g	C-Ausfuhr im Kot g	C-Ausfuhr in der exspir. CO_2 g	C-Ausfuhr Gesamte C-Ausgaben g	Chem. Energiegehalt des Harns kg-cal.	Cal./N
3	9	3.	129,87	259,69	153,6	413,29	2,67	—	2,67	2,32	—	35,42	37,74	22,48	8,4
	10	4.	128,77	242,85	94,8	337,65	2,67	—	2,67	2,32	—	35,12	37,44	22,48	
	11	6.	120,31	167,82	106,1	273,92	3,16	—	3,16	2,63	—	32,81	35,44	27,34	8,6
	12	7.	114,28	146,61	95,6	242,21	3,16	—	3,16	2,63	—	32,81	33,79	27,34	
	13	11.	100,29	144,94	117,4	262,34	2,47	—	2,47	2,42	—	27,35	29,82	17,69	7,0
4	14	2.	156,34	425,26	164,1	589,36	1,93	—	1,93	2,82	—	42,64	45,46	24,97	12,9
	15	4.	143,07	371,13	189,4	560,53	2,03	—	2,03	2,48	—	39,02	41,50	23,74	11,7
	16	6.	141,78	309,76	179,4	489,16	2,42	—	2,42	2,33	—	38,67	41,00	17,47	7,2
	17	8.	136,67	295,87	145,0	440,87	2,67	—	2,67	2,63	—	36,82	39,90	23,92	8,9
5	18	22.	107,84	164,45	136,9	301,35	3,79	—	3,79	2,97	—	29,41	32,38	30,76	8,1
	19	24.	100,07	170,37	157,0	327,37	3,72	—	3,72	2,82	—	27,29	30,11	30,91	8,3
	20	26.	98,92	149,42	190,8	340,22	4,19	—	4,19	4,10	—	26,95	31,05	43,19	10,3
* Beobachtungstag:															
6	21	8.*	128,06	192,33	106,30	298,63	5,18	0,66	5,84	3,22	4,03	34,92	42,17	40,5	12,6
	22	10.	133,51	182,21	109,65	291,86	5,15	0,66	5,81	3,32	4,03	36,41	43,76	40,6	12,2
	23	14.	128,20	163,74	114,60	279,34	5,01	0,66	5,67	3,42	4,03	34,95	42,40	42,8	12,6
	24	16.	128,81	174,10	119,50	293,60	5,38	0,72	6,10	3,62	4,39	35,13	43,14	44,4	12,3
	25	18.	126,12	173,29	118,20	291,49	5,54	0,72	6,26	3,24	4,39	34,39	42,02	44,8	14,1

Tabelle IX.

Eiweiß- und Fettzersetzung und Wärmeproduktion pro 24 Stunden.

(Versuchsreihen 1 bis 5.)

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	Zersetztes Eiweiß g	Zersetztes Fett g	In Wärme umgesetzte chemische Energie aus verbranntem Eiweiß kg-cal.	In Wärme umgesetzte chemische Energie aus verbranntem Fett kg-cal.	In Wärme umgesetzte chemische Energie aus verbranntem zusammen (a) kg-cal.	Chemische Energie im Harn (b) kg-cal.	Wärmeproduktion (a—b) kg-cal.
1	1	6.	7,95	16,51	44,92	155,10	200,02	14,60	185,42
	2	8.	8,37	15,00	47,29	141,00	188,29	13,56	174,73
	3	9.	7,48	16,02	42,25	150,59	192,84	11,05	181,79
	4	10.	6,86	14,03	38,76	131,88	170,64	10,19	100,45

Tabelle IX (Fortsetzung).

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	Zersetztes Eiweiß g	Zersetztes Fett g	In Wärme umgesetzte chemische Energie aus verbranntem Eiweiß kg-cal.	Fett kg-cal.	zusammen (a) kg-cal.	Chemische Energie im Harn (b) kg-cal.	Wärmeproduktion (a—b) kg-cal.
2	5	3.	16,62	27,64	93,90	259,81	353,71	20,39	333,32
	6	4.	18,40	25,84	103,96	242,89	346,85	21,40	325,45
	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	7	5.	16,03	24,01	90,56	225,69	316,25	18,43	297,82
	8	6.	13,28	25,57	75,04	240,39	315,43	14,54	300,89
3	9	3.	16,72	37,75	94,49	354,85	449,34	22,48	426,86
	10	4.	16,72	37,36	94,49	351,18	445,67	22,48	423,19
	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	11	6.	19,75	32,72	111,58	307,56	419,14	27,34	391,80
	12	7.	19,75	30,57	111,58	287,41	398,99	27,34	371,65
	13	11.	15,44	28,34	87,23	266,39	353,62	17,69	335,93
4	14	2.	12,06	50,87	68,14	478,18	546,32	24,97	521,35
	15	4.	12,69	45,29	71,70	425,72	497,42	23,74	473,68
	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	16	6.	15,12	42,98	85,43	404,01	489,44	17,47	471,97
	17	8.	16,69	40,48	94,17	380,51	474,68	23,92	450,76
5	18	22.	23,69	25,93	133,85	243,74	377,59	30,76	346,83
	19	24.	23,25	23,28	131,36	218,83	350,19	30,91	319,28
	...	...	...	...	...	...	...	...	...
	20	26.	26,17	22,50	147,86	211,50	359,36	43,19	316,17

Tabelle X.

Eiweiß- und Fettbilanz und Wärmeproduktion pro 24 Stunden.

(Versuchsreihe 6.)

Wievielter Versuchstag	N- Einnahmen g	N- Ausgaben g	N- Bilanz g	Eiweiß-Bilanz g	C- Einnahmen g	C- Ausgaben g	C- Bilanz g	Fett-Bilanz g	Energie- Einnahmen im Futter kg-cal.	Einnahmen aus verbranntem Körpereiweiß kg-cal.	Einnahmen zusammen (a) kg-cal.	Ausgaben im Harn kg-cal.	Ausgaben im Kot kg-cal.	Ausgaben im deponierten Fett kg-cal.	Ausgaben zusammen (b) kg-cal.	Wärmeproduktion (a—b) cal.
8	504	5,84	– 0,80	– 5,00	47,08	42,17	+ 4,91	+ 9,80	489,6	28,25	517,83	40,5	43,6	92,1	176,2	341,6
10	504	5,81	– 0,77	– 4,81	47,08	43,76	+ 3,32	+ 7,59	489,6	27,18	516,8	40,6	43,6	71,3	155,6	361,2
14	504	5,67	– 0,63	– 3,94	47,08	42,40	+ 4,68	+ 8,76	489,6	22,16	511,84	42,8	43,6	82,3	168,7	343,1
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
16	504	6,10	– 1,06	– 6,62	47,08	43,14	+ 7,42	+ 9,65	489,6	37,40	527,0	44,4	46,0	90,7	181,1	345,9
18	504	6,26	– 1,22	– 7,62	47,08	42,02	+ 5,06	+11,78	489,6	43,0	532,6	45,8	46,0	110,7	202,5	330,1

Tabelle XI.

Wärmeproduktion pro 24 Stunden, durch direkte Calorimetrie bestimmt.
(Versuchsreihen 1 bis 5.)

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	A. Wärmeabgabe: an das Calorimeter abgegeben kg-cal.	A. Wärmeabgabe: mit der Ventilationsluft abgeführt kg-cal.	A. Wärmeabgabe: Verdampfungswärme des Wasserdampfes in die Ventilationsluft kg-cal.	A. Wärmeabgabe: Gesamte Wärmeabgabe kg-cal.	B. Die Gewichts- und Temperaturveränderungen des Tieres entsprechen einer Wärmeabgabe von kg-cal.	C. Wärmeproduktion (A—B) kg-cal.
1	1	6.	126,60	17,55	43,36	187,51	6,17	181,34
	2	8.	120,09	19,68	42,42	191,19	5,18	186,01
	3	9.	—[1]	17,12	36,13	—	—	—
	4	10.	151,58	13,81	35,77	201,16	1,38	199,78
2	5	3.	243,01	27,68	82,59	353,21	5,10	348,11
	6	4.	241,97	23,28	78,47	343,72	2,36	341,36
	7	5.	247,09	22,73	68,94	338,81	4,05	344,76
	8	6.	221,76	22,73	69,99	314,48	2,78	311,70
3	9	3.	262,80	25,78	152,54	441,12	8,51	432,61
	10	4.	269,60	25,38	142,65	437,63	3,57	434,06
	11	6.	292,74	29,34	98,57	420,65	7,40	413,25
	12	7.	304,00	27,03	86,11	417,14	2,01	415,13
	13	11.	250,22	21,37	85,14	356,73	0,10	356,63
4	14	2.	269,78	30,00	249,80	549,58	25,09	524,49
	15	4.	298,26	30,00	218,01	496,27	20,65	475,62
	16	6.	272,17	28,25	181,96	482,38	11,89	470,49
	17	8.	287,34	28,19	173,79	490,32	14,75	475,57
5	18	22.	234,85	25,78	88,42	357,23	1,76	355,47
	19	24.	217,80	23,80	100,07	341,67	6,85	334,82
	20	26.	245,82	19,55	87,77	353,14	9,10	344,04

Tabelle XII.

CO_2-Produktion und Wasserausscheidung, Eiweiß- und Fettumsatz und Wärmeproduktion pro 24 Std. und 1 kg Körpergewicht. (Versuchsreihen 1 bis 6.)

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wievielter Hungertag	Mittleres Körpergew. g	In der Ventilationsluft abgeführt: CO_2 g	In der Ventilationsluft abgeführt: H_2O g	Wasser im Harn g	Gesamte Wasserabgabe g	Zersetztes Eiweiß g	Zersetztes Fett g	Angesetztes Fett g	Wärmeproduktion: indirekte Calorimetrie kg-cal.	Wärmeproduktion: direkte Calorimetrie kg-cal.	Die direkte Calorimetrie ergibt mehr (+), resp. weniger (—) kg-cal.	Die direkte Calorimetrie ergibt mehr (+), resp. weniger (—) %
1	1	6.	3457	16,68	21,35	?	?	2,30	4,77	—	53,63	52,45	— 1,18	— 2,20
	2	8.	3306	16,44	21,84	8,77	30,61	2,53	4,53	—	52,85	56,26	+ 3,41	+ 6,45
	3	9.	3314	16,63	18,56	11,33	29,89	2,25	4,83	—	54,86	—	—	—
	4	10.	3247	15,14	18,75	8,92	27,67	2,11	4,32	—	49,41	61,52	+ 12,11	+ 24,51

[1]) Spirometerkurven infolge äußerst großer Barometerschwankungen nicht zu berechnen.

Tabelle XII (Fortsetzung).

Versuchsreihe	Versuchs Nr.	Wievielter Hungertag	Mittleres Körpergew.	In der Ventilationsluft abgeführt		Wasser im Harn	Gesamte Wasserabgabe	Zersetztes Eiweiß	Zersetztes Fett	Angesetztes Fett	Wärmeproduktion			
				CO_2	H_2O						indirekte Calorimetrie	direkte Calorimetrie	Die direkte Calorimetrie ergibt mehr (+) resp. weniger (—)	
			g	g	g	g	g	g	g	g	kg-cal	kg-cal.	kg-cal.	%
2	5	3.	5357	19,16	26,24	18,6	44,84	3,10	5,16	—	62,22	64,98	+ 2,76	+ 4,43
	6	4.	5328	18,88	25,07	20,8	45,87	3,45	4,85	—	61,08	64,06	+ 2,98	+ 4,89
	7	5.	5383	17,01	21,80	17,3	39,10	2,98	4,45	—	55,32	62,18	+ 6,86	+ 12,40
	8	6.	5317	17,22	22,41	17,4	39,81	2,50	4,81	—	56,58	58,63	+ 2,05	+ 3,62
3	9	3.	6274	20,70	41,39	24,5	65,89	2,70	6,10	—	68,03	68,95	+ 0,92	+ 1,35
	10	4.	6016	21,40	40,36	15,8	56,15	2,81	6,28	—	70,34	72,15	+ 1,81	+ 2,57
	11	6.	5818	20,68	28,84	18,2	47,04	3,39	5,61	—	67,34	71,02	+ 3,68	+ 5,46
	12	7.	5635	20,28	26,02	17,0	43,02	3,59	5,55	—	65,95	73,67	+ 7,72	+ 11,70
	13	11.	5263	19,05	27,54	22,3	49,84	2,97	5,46	—	63,83	67,78	+ 3,95	+ 6,18
4	14	2.	9157	17,07	46,44	17,9	64,34	1,31	5,55	—	56,93	57,27	+ 0,34	+ 0,59
	15	4.	8585	16,66	43,23	27,0	65,23	1,48	5,27	—	55,17	55,40	+ 0,23	+ 0,42
	16	6.	8356	16,92	37,07	21,5	58,57	1,81	5,14	—	56,48	56,30	— 0,18	— 0,32
	17	8.	8101	16,87	36,52	17,9	54,42	2,06	5,00	—	55,64	58,70	+ 3,06	+ 5,49
5	18	22.	6730	16,02	24,43	20,4	44,78	3,52	3,85	—	51,53	52,82	+ 1,29	+ 2,50
	19	24.	6492	15,41	26,24	24,2	50,42	3,58	3,58	—	49,18	51,57	+ 2,39	+ 4,86
	20	26	6461	15,29	23,12	29,5	52,65	4,05	3,49	—	48,93	53,25	+ 4,32	+ 8,82
*Versuchstag:														
6	21	8.*	5351	23,92	35,93	19,9	55,83	0,93	—	1,83	63,83	—	—	—
	22	10.	5238	25,48	34,78	20,9	55,68	0,91	—	1,44	68,95	—	—	—
	23	14.	5076	25,26	3[illegible]25	22,8	55,05	0,78	—	1,72	67,59	—	—	—
	24	16.	5152	25,00	33,79	23,7	56,99	1,28	—	1,86	67,14	—	—	—
	25	18.	5081	24,82	34,11	23,3	57,41	1,50	—	2,31	65,91	—	—	—

I. Die N-Ausscheidung.

Ehe ich an die Besprechung der Ergebnisse der N-Bestimmungen gehe, muß ich folgendes vorausschicken:

1. In sämtlichen Hunger-Versuchsreihen wurde bloß der Harn-Stickstoff und nicht auch der des Kotes bestimmt; und zwar weil die Tiere in den Versuchsreihen 1 und 2 während der Beobachtungsdauer gar keinen Kot, der Hund der Versuchsreihen 4 und 5 aber erst am Schluß des zweiten Transfusionsversuchs reichliche Mengen stark bluthaltigen Kotes entleerte, der aus diesem Grunde nicht auf seinen N-Gehalt untersucht wurde.

In Versuchsreihe 3 hatte der Hund zu wiederholten Malen vor und nach der Transfusion geringe Mengen Kot entleert, die aber leider — durch ein Versehen — ohne analysiert zu werden weggeworfen wurden. Das Fehlen des Kot-Stickstoffes der Hungertiere dürfte im übrigen kaum einen nennenswerten Fehler bedeuten, da ja am Hungertiere, wie wir aus Schöndorffs[1]) Untersuchungen wissen, jener nur einen ganz geringen Bruchteil der ganzen N-Ausfuhr beträgt. Dasselbe fand auch Förster in seinen Transfusionsversuchen: „In bezug auf den Kot ist zu bemerken, daß sowohl dessen Menge wie auch dessen Wasser- und Stickstoffgehalt . . . derselbe ist, wie sie beim Hunger überhaupt ausgeschieden wird, und zwar so unerheblich ist, daß sie bei der nachfolgenden Beurteilung der ausgeschiedenen Stickstoffmenge gar nicht in Betracht gezogen werden kann."

Dasselbe erhellt ferner aus meiner Versuchsreihe 6, in der der Kot ohne Verlust gesammelt und aufgearbeitet wurde und in der nach der Transfusion eine bloß 3 Tage andauernde geringe Änderung der N-Ausscheidung wahrzunehmen war.

2. Der Harn der Hunde war in allen Versuchsreihen vor und nach der Transfusion von Eiweiß und Blutfarbstoff frei; bloß in Versuchsreihe 4 enthielt er vor der Transfusion gelegentlich eine Spur von Eiweiß. Daß nach der Transfusion artgleichen Blutes kein Eiweiß im Harn auftritt, wird auch von Ponfick[2]), Hédon[3]), Forster[4]), Neumeister[5]), usw. konstatiert, ist übrigens selbstverständlich, seitdem es bekannt ist, daß außer artfremdem Blute, Hühnereiweiß, Casein und

---

[1]) Bernhard Schöndorff, Über den Einfluß der Schilddrüse auf den Stoffwechsel. Arch. f. d. ges. Physiol. 67, 432, 1897.

[2]) Ponfick, Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Transfusion. Virchows Archiv 62, 273, 1875.

[3]) E. Hédon, Transfusion après les hémorrhagies de globules rouges . . . . en suspension dans un serum artificiel. Arch. de medic. experiment. et d'anat. patholog. 14, 1902.

[4]) Forster, Beiträge zur Lehre von der Eiweißzersetzung im Tierkörper. Zeitschr. f. Biologie 11, 1875, 496, und: Über die Eiweißzersetzung im Tierkörper bei Transfusion von Blut und Eiweißlösungen. Sitzungsber. der math. physik. Klasse der Kgl. bayr. Akademie der Wissensch. zu München 5, 206, 1871.

[5]) R. Neumeister, Zur Physiologie der Eiweißresorption und zur Lehre von den Peptonen. Zeitschr. f. Biol. 27, 309.

Hämoglobin, jede andere Eiweißart (sei es Voll- oder defibriniertes Blut, artgleiches oder fremdes Serum) keine Albuminurie zu erzeugen pflegen. (Bloß Otto Weiß[1]) sah nach Injektion von fremdem Serum regelmäßig Eiweiß im Harn auftreten.)

3. In den Versuchsreihen 3 und 4 hatte der Harn, der vor der Transfusion stets hellgelb war und blieb, während der ganzen Beobachtungsdauer nach der Transfusion die Eigentümlichkeit, am Licht in mäßigem Grade nachzudunkeln; die Reaktion auf Alkaptonkörper und auf Bilirubin fiel sicher negativ, die auf Urobilin aber sehr schwach positiv aus. Es darf wohl angenommen werden, daß es sich hier um so geringe Mengen von Urobilin gehandelt hatte, daß der darin enthaltene Stickstoff in den weiter unten folgenden Erörterungen mit in die Menge der N-haltigen Stoffwechsel-Endprodukte des Harns inbegriffen werden konnte. Übrigens hatte auch Hédons Hund nach erfolgter Transfusion dunkleren Harn entleert, der jedoch keinen Gallenfarbstoff enthielt.

4. Schließlich muß ich noch auf die eigentümlichen periodischen Schwankungen hinweisen, die in den N-Werten der 4., 5. und 6. Versuchsreihe wahrzunehmen sind und darin bestehen, daß an den Tagen, an denen ein Respirationsversuch stattfand, oft auffallend wenig, an dem jeweilig darauf folgenden Tage aber auffallend viel N ausgeschieden wurde. Da die Abgrenzung des Harns regelmäßig um dieselbe Zeit, und zwar mittels Katheters vorgenommen wurde, konnten die kleineren Werte der Respirations-Versuchstage nicht durch Harnretention in der Blase verursacht gewesen sein, ebenso wenig durch den Unterschied in der Umgebungstemperatur — 27° C im Calorimeter und ca. 20° C im Stoffwechselkäfig —, da ja durch solche Temperaturunterschiede die Verbrennung der Eiweißkörper bekanntlich nur wenig beeinflußt wird. — Wohl aber wirkt da ein anderes Moment ausschlaggebend, d. i. der bedeutende Unterschied zwischen der Wasseraufnahme in den Respirations-Versuchstagen und jener in den Zwischen-

[1]) O. Weiß, Über die Wirkung von Blutserum-Injektionen ins Blut, Arch. f. d. ges. Physiol. 65, 215, 1896, und: Ein Nachtrag zu den Untersuchungen über die Wirkung von Blutserum-Injektionen ins Blut. Arch. f. d. ges. Physiol. 68, 348, 1897.

tagen. Um nämlich eine genaue Dosierung des Trinkwassers zu erreichen, gab ich den Hunden in diesen 3 Versuchsreihen (4, 5 und 6) bloß einmal täglich, und zwar am Beginn des Versuchstages und nur so viel Wasser, als sie auf einmal restlos auszutrinken pflegen. Selbstverständlich waren aber die Hunde am Beginn eines Zwischentages, nachdem sie vorher in der Regel über 20 Stunden im warmen Calorimeter gesessen und dort offenbar viel Wasser verloren hatten, recht durstig und tranken weit mehr als vor dem Beginn eines Respirationsversuches nach einem ganztägigen Aufenthalt im kühleren Stoffwechselkäfig.

Nun hat bereits Rubner[1]) darauf hingewiesen und O. Neumann[2]) in exakten Untersuchungen gezeigt, daß durch eine Erhöhung resp. Einschränkung der Wasserzufuhr der Grad der Eiweißzersetzung zwar nicht geändert wird, wohl aber eine Ausschwemmung resp. Retention von N-haltigen Zersetzungsprodukten erfolgen kann. Offenbar waren es diese abwechselnd sich abspielenden Vorgänge von Ausschwemmung und Retention, die in den Versuchsreihen 4, 5 und 6 die erwähnten periodischen Schwankungen verursachten. Um ein richtiges Bild von der N-Ausscheidung zu erhalten, habe ich in diesen Versuchsreihen die Mittelwerte von je einem Respirationsversuchs- und einem Zwischentag berechnet und diese Werte außerdem noch auf die Körpergewichtseinheit bezogen (s. Tab. IV u. VI). In Versuchsreihe 3 waren zwar die Respirationsversuche ebenfalls durch eingeschobene Zwischentage getrennt, jedoch wurde hier aus äußeren Gründen der Harn von je 2 Tagen vereinigt, demnach durch die Analyse Mittelwerte von je 2 Tagen gewonnen. In den Versuchsreihen 1 und 2 folgen die Respirationsversuche einander in der Regel täglich, so daß sich in der Wasserzufuhr, daher auch in der N-Ausscheidung keine Unterschiede ergaben.

Aus den in Tabelle II bis VI verzeichneten Daten sind die Veränderungen ersichtlich, die die N-Ausscheidung im Harn unter dem Einfluß der Transfusion erleidet. So sehen wir sie in geringem Grade abnehmen in der Versuchsreihe 1 (die aller-

---

[1]) N. Rubner, Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung.

[2]) O. Neumann, Der Einfluß größerer Wassermengen auf die Stickstoff-Ausscheidung beim Menschen. Arch. f. Hygiene 36, 1899.

dings 2 Tage nach erfolgter Transfusion bereits abgebrochen wurde) und stärker abnehmen in Versuchsreihe 2 (in der wegen Fehlens einer Reihe von Körpergewichts-Bestimmungen die Daten nicht auf die Gewichtseinheit bezogen werden konnten).

In den Versuchsreihen 3 bis 6 trat hingegen ausnahmslos eine mehr oder minder erhebliche Steigerung der N-Ausscheidung unmittelbar nach erfolgter Transfusion auf, um entweder bald wieder abzuklingen (Versuchsreihe 3), oder aber zum Schluß der Beobachtung (Versuchsreihe 4 und 6) immer noch zuzunehmen. Diese Zunahme beträgt in der Versuchsreihe 4 300% am 20. Tage und in der Versuchsreihe 6 52% am 12. Tage nach erfolgter Transfusion. — Was einen Vergleich dieser Ergebnisse mit den Befunden früherer Autoren anbelangt, so muß zunächst die Frage entschieden werden, ob die Verschiedenheiten der Versuchsanordnung in jenen und unseren Versuchen einen Vergleich überhaupt statthaft erscheinen lassen. So hatten zwar — mit Ausnahme von Panum[1]), der der Transfusion einen Aderlaß vorausschickte — alle weiter unten angeführten Autoren eine sog. plethorische Transfusion, so wie ich, vorgenommen, anderseits jedoch verwendeten alle diese Autoren vorher defibriniertes Blut zur Transfusion, und nur Geelmuyden[2]) — und in einigen Versuchen auch Panum — führten die direkte Transfusion von Hund zu Hund aus wie ich.

Von vornherein erschien die Annahme möglich, daß direkt transfundiertes einerseits und defibriniertes Blut andrerseits sich im Kreislauf des Empfängers verschieden verhalten: daß jenes, als unversehrt transplantiertes Gewebe, seine Lebensfähigkeit voll bewahrt, während dieses, durch den Akt der Defibrinierung möglicherweise geschädigt, eine mehr oder minder starke Zersetzung erleidet und auch N-haltige Schlacken an den Harn abgeben kann. Gegen diese Annahme sprechen aber die weiter unten (S. 128 u. ff.) zu erörternden Untersuchungen mehrerer Autoren,

---

[1]) P. L. Panum, Experimentelle Untersuchungen über die Transfusion, Transplantation oder Substitution des Blutes usw. Virchows Arch. 27, 240 u. 433, 1861, und: Experimentelle Untersuchungen über die Mengenverhältnisse des Blutes und seiner Bestandteile durch die Inanition. Virchows Arch. 29, 241, 1864.

[2]) H. Chr. Geelmuyden, Von einigen Folgen übergroßer Blutfülle. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1892, 480.

die die Folgen der Transfusion aus einem anderen Gesichtspunkte prüften und keinen Unterschied in dem Verhalten direkt transfundierten und vorher defibrinierten Blutes fanden; ferner auch die von Hédon[1]), der sogar mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschene rote Blutkörperchen im Gefäßsystem des Empfängertieres vollkommen lebensfähig sich erweisen sah.

Nachdem auch die relative Menge des transfundierten Blutes in jenen und in unseren Versuchen keine großen Unterschiede aufweist (15 bis 26 g pro 1 kg Tier bei Schneider[2]), je 30 bis 35 an 3 aufeinander folgenden Tagen bei Tschirief[3]), 18 g bei Förster[4]), 21 g bei Albertoni[5]), 32 bis 56 g bei Geelmuyden[6]) — gegen 17 bis 43 g in unseren Versuchen) ist ein Vergleich zwischen unseren und den nun anzuführenden Versuchen zulässig.

Schneider[2]) war wohl im Jahre 1861 der erste, der an 2 Hunden den Einfluß der Transfusion von defibriniertem Blut auf den Stoffwechsel, und zwar speziell auf die Harnstoffausscheidung prüfte. Da diese Untersuchungen im Verlaufe von 12 resp. 10 Wochen alles in allem je 8mal, und zwar teils unmittelbar nach erfolgter Transfusion, teils in oft mehrwöchentlichen Zwischenpausen erfolgten, ist es begreiflich, daß aus den Resultaten dieser Untersuchungen keinerlei Konsequenzen gezogen werden können.

Panum[7]), der (1863 bis 1864) beinahe das ganze Blut seines Versuchshundes durch das defibrinierte Blut eines anderen Hundes ersetzte, fand, daß die Harnstoffausscheidung durch diesen tiefen Eingriff nicht geändert wird.

---

[1]) l. c.

[2]) Otto Schneider, Einige Beobachtungen über den Stoffwechsel bei künstlicher Plethora und Anämie. Inaug.-Diss., Marburg 1861.

[3]) L. Tschirief, Der tägliche Umsatz der verfütterten und der transfundierten Eiweißstoffe. Arbeiten aus der physiol. Anstalt z. Leipzig, mitgeteilt von C. Ludwig, 9. Jahrg. 1874, 292 und Ber. d. Verhdl. d. k. sächs. Ges. d. Wiss. z. Leipzig 62, 441, 1874.

[4]) l. c.

[5]) P. Albertoni, La transfusion du sang et l'échange nutritif de l'organisme. Arch. ital d. biologie 2, 165, 1882.

[6]) l. c.

[7]) l. c.

Tschirief[1]), der 1874 seinen Hund abwechselnd durch je 3 Tage hungern ließ, dann als Futter zubereitetes Blut per os gab und ihm schließlich defibriniertes Blut intravenös injizierte, fand, daß der Hund, der an 3 Hungertagen insgesamt 4,65 g N ausgeschieden hatte, den N des per os einverleibten Blutes innerhalb dreier Tage fast quantitativ im Harn entleerte; hingegen von 19,09 g per venam eingeführtem N innerhalb dreier Tage bloß 6,85 g, in einem zweiten Versuche von 18,53 g bloß 10,60 g ausgeschieden hatte. Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß das parenteral eingeführte Blut ganz anders und jedenfalls viel langsamer abgebaut wird, als per os eingeführtes Blut, wenn auch die Methodik der N-Bestimmung in Tschiriefs Versuchen, wie auch später Forster mit Recht bemerkte, recht viel zu wünschen übrig ließ.

Worm-Müller[2]) sah (1875) die nach der Transfusion eingetretene Steigerung der Harnstoffausscheidung solange andauern, bis die Zahl der roten Blutkörperchen wieder zur Norm zurückgekehrt war.

In Forsters[3]) Versuchen (1875) stieg die Menge des aus dem N berechneten Harnstoffes — infolge der Injektion defibrinierten Blutes — von 11,6 bis 14,3 g auf 16,3 bis 17,5 g pro Tag. Hierzu bemerkt Forster, daß „durch die Transfusion selbst großer Mengen von Blut die Ausscheidung des Stickstoffs durch Harn und Kot nur in ganz geringem Maße erhöht wird".

Albertoni[4]) sah (1882) an hungernden Hunden, denen er defibriniertes Blut in die Venen spritzte, die Menge des Harnstoffes von 6,24 g resp. 5 g täglich auf 9,36 g ansteigen. Dasselbe fand er, wenn er das Blut dem Hungertiere in die Bauchhöhle spritzte, hingegen blieb auffallenderweise die Harnstoffausscheidung nach der Einspritzung von Blut in die Bauchhöhle fast unverändert, wenn es sich um wohlgenährte Tiere gehandelt hatte. Dem entgegen sah Pugliese[5]) in zweien von

---

[1]) l. c.

[2]) Worm-Müller, Plethora und Transfusion. Christiania 1875; zitiert bei Ott (S. 157), S. 132 weiter unten.

[3]) l. c.

[4]) l. c.

[5]) Angelo Pugliese, La transfusion du sang homogène defibriné dans la cavité peritoneale et l'échange materiel. Arch. ital. d. biologie 18, 365.

vier ähnlich angelegten Versuchen (Einspritzung von defibriniertem Blut in die Bauchhöhle) an wohlgenährten Hunden die N-Ausscheidung um 22 resp. 26% ansteigen, in zwei anderen allerdings unverändert bleiben.

Geelmuyden[1]) führte 1892 in 5 Versuchsreihen die direkte Transfusion an gefütterten Hunden aus, und zwar immer erst, nachdem die N-Ausscheidung gleichmäßig geworden war. Diese stieg in Versuchsreihe 1 am 1. Tage nach der Transfusion von 16,47 g auf 26,37 g, um an 6 weiteren Tagen um einen Mittelwert von 19 g zu schwanken; in der Versuchsreihe 2 betrug sie vor der Transfusion 7,15 g; an den 13 Tagen nach der Transfusion 9,5 g im Durchschnitt; in den übrigen Versuchsreihen war ebenfalls eine wenn auch geringere Steigerung wahrzunehmen. Geelmuyden berechnete in einem seiner Versuche das Verhältnis zwischen der im transfundierten Blute eingeführten N-Menge und der N-Mehrausfuhr und fand, daß „in den 14 auf die Transfusion folgenden Tagen kaum die Hälfte des mit dem Blute eingeführten N vom Hunde ausgeharnt worden ist“.

In den meisten dieser Arbeiten war also, so wie in meinen Versuchsreihen 3 bis 4, nach der Transfusion arteigenen Blutes eine Steigerung der N-Ausscheidung im Harn wahrzunehmen.

Es ergeben sich nun die folgenden Fragen:

1. Stehen Transfusion und Steigerung der N-Ausscheidung in einem ursächlichen Zusammenhang?

2. Wenn ja, welche Vorgänge sind es, die sich da abspielen?

Auf einen ursächlichen Zusammenhang dürfen wir zweifelsohne folgern in Versuchsreihe 3, wo der Transfusion die Steigerung auf dem Fuß folgt, um dann wieder allmählich abzuklingen; doch nicht so ohne weiteres in der lang dauernden Versuchsreihe 4, in der auch eine andere Deutung möglich ist. Es tritt nämlich die an Hungertieren zu beobachtende sogenannte prämortale Steigerung der N-Ausscheidung durchaus nicht immer erst prämortal, sondern häufig viel früher ein (wie dies bereits von Martin Kaufmann[2]) hervorgehoben

[1]) l. c.

[2]) Martin Kaufmann, Über die Ursache der Zunahme der Eiweißzersetzung während des Hungerns. Zeitschr. f. Biol. 41, 75, 1901.

wurde). So begann sie bei 2 Hunden von Falck[1]) am 7. resp. 8. Tage und dauerte am 13. resp. 20. Tage noch fort; desgleichen begann sie in dem von Feder[2]) beschriebenen Hundeversuch am 6. Tage und dauerte noch am 16. Tage fort. Und obwohl es bloß eine — allerdings nicht allzu seltene — Ausnahme von der Regel ist, wenn der Hungerzustand allein schon eine früh einsetzende Steigerung der N-Ausscheidung hervoruft, läßt es sich dennoch sowohl in unserer Versuchsreihe 4, wie auch in den an Hungertieren ausgeführten Versuchen mehrerer der erwähnten Autoren nicht mit Sicherheit behaupten, daß die vermehrte N-Ausscheidung von der Transfusion verursacht war. Vollends bewiesen wird es erst durch den Befund von Geelmuyden, der an gefütterten Hunden experimentierte und — wie erwähnt — die Transfusion erst vornahm, als deren N-Ausscheidung eine gleichmäßige geworden war; so auch durch unsere Versuchsreihe 6, die gleichfalls am gefütterten Hunde angestellt wurde.

In der letzteren war die N-Ausscheidung im Harn, wie es die auf 1 kg Körpergewicht bezogenen Werte zeigen, vom 1. bis inkl. 15. Beobachtungstage fast unverändert, während unmittelbar nach erfolgter Transfusion der Anstieg bereits begann und bis zum Schluß der Beobachtung andauerte.

Da es auf Grund dieser Ausführungen klar geworden ist, daß Transfusion und erhöhte N-Ausscheidung in ursächlichem Zusammenhang stehen, bleibt noch zu erörtern, welche Vorgänge es sind, die zur N-Mehrausscheidung, also zum vermehrten Eiweißzerfall führen. Die Ansichten, die frühere Autoren hierüber äußern, lauten folgendermaßen:

Tschirief[3]) hatte einen Hund 11 Tage nach der letzten Transfusion getötet und den Trockenrückstand des Gesamtblutes wesentlich vermehrt (27,1°/₀ gegen 24°/₀ der Norm), den des Serums hingegegen unverändert gefunden. Wenn Tschiriefs Beobachtungen — die sich im übrigen mit älteren Angaben von Panum decken — richtig sind, so bleibt zur

---

[1]) F. A. Falck, Physiolog. Studien über die Ausleerungen des auf absolute Karenz gesetzten Hundes. Beiträge z. Physiol., Pharmakol. u. Toxologie 1, 39, 1875.

[2]) L. Feder, zitiert bei Kaufmann, Anmerkung Nr. 1.

[3]) l. c.

Erklärung dieser Erscheinung nur die Annahme übrig, daß das Serumeiweiß rascher als das der Blutkörperchen verbraucht wird und sein N es ist, der das Plus an Harnstickstoff abgibt. Tschirief selbst leitet die erhöhte N-Ausfuhr nach der Transfusion davon ab, daß diese „. . . die Umsetzungen anregt, wenn auch in geringerem Grade als die Fütterung". Forster[1]) kommt zu folgendem Schlusse: Wenn eine gewisse Steigerung der N-Ausscheidung, also vermehrter Eiweißzerfall, nach der Bluttransfusion wahrzunehmen ist, kann dies zunächst dadurch verursacht sein, daß die „durch die Transfusion vermehrte Organmasse der Versuchstiere" nun auch entsprechend mehr N-haltige Stoffwechselschlacken an den Harn abgibt; es kann aber auch die Folge des durch die Transfusion gesteigerten Blutdruckes, resp. der „hierdurch bewirkten lebhafteren Zirkulation des Säftestromes in den Organen des Körpers" darstellen. Das will Forster durch Versuche beweisen, in denen kein Blut, sondern eine verdünnte Lösung von Rohrzucker oder Kochsalz infundiert wurde und dennoch eine vermehrte N-Ausscheidung zu beobachten war; in diesen Versuchen darf aber die durch die erhöhte Diurese bewirkte Ausschwemmung von N-haltigen Stoffwechselprodukten, die S. 125 und 126 erörtert wurde, nicht vergessen werden.

Ott[2]) folgert aus seinen Versuchen — im Gegensatz zu den meisten anderen Autoren —, daß alle transfundierten Blutkörperchen zugrunde gehen; auf einen solchen Zerfall schloß auch Quincke[3]), der eisenhaltige, mit Schwefelammonium sich dunkel färbende Körper mehrere Wochen nach erfolgter Transfusion in großen Mengen in der Leber und in anderen Organen auftreten sah.

Massenhaftes Zugrundegehen von roten Blutkörperchen — von Geelmuyden[4]) entschieden bestritten — konnte eine Ursache der gesteigerten N-Ausfuhr sein. Geelmuyden hatte in mehreren seiner Versuchsreihen vor und nach der Transfusion

---

[1]) l. c.

[2]) Ott, Über den Einfluß der Kochsalzinfusion auf den verbluteten Organismus im Vergleich mit anderen zur Transfusion verwendeten Flüssigkeiten. Virchows Arch. 93, 114, 1883.

[3]) H. Quincke, Zur Pathologie des Blutes. Arch. f. klin. Med. 25, 567, 1880 und 27, 193, 1880.

[4]) l. c.

die prozentischen Werte für den Inhalt des Blutes an Blutkörperchenstromata (Versuche 1, 2, 3) und an Farbstoff (Versuche 3 und 4) festgestellt und diese Menge lange Zeit hindurch erheblich erhöht gefunden, was er — im Einklang mit Panum und Tschirief — so erklärt, daß „das flüssige in Plasma gelöste Eiweiß rascher als das geformte, nur Körperchen enthaltende (?!)[1]) aus dem Blute verschwindet". In diesem Falle müßte dieses rascher zerfallende Plasmaeiweiß das Plus von N liefern.

Wie ersichtlich, suchen wir in den angeführten Arbeiten vergebens nach einer einheitlichen Begründung des gesteigerten Eiweißzerfalles; sie ist aber auch in der Tat schwer zu geben. Der Umstand, daß in 2 von 6 Versuchsreihen eine geringe Urobilinausscheidung im Harn wahrzunehmen war, weist darauf hin, daß rote Blutkörperchen in einer gewissen Anzahl zugrunde gegangen waren. Allerdings ist die Menge dieses Urobilins eine sehr geringe; größere Mengen des Farbstoffes, aus einer größeren Anzahl zerfallener roter Blutkörperchen hervorgehend, konnten aber in der Galle ausgeschieden worden und so dem Nachweis entgangen sein; letzteres um so eher, als, wie erwähnt, die Bestimmung des Kot-N in allen Hungerversuchsreihen fehlt. Dabei muß es ja gar nicht dazu kommen, daß die transfundierten roten Blutkörperchen in großer Zahl (Quincke[2]) oder alle (Ott[3]) zugrunde gehen; es genügt bei weitem, mit Werner Schultz[4]) anzunehmen, daß ihr größerer Teil dem Organismus erhalten bleibt, der dritte oder vierte Teil hingegen zerfällt, welchem Zerfall anfangs weniger, später immer mehr und mehr Blutkörperchen unterliegen.

In manchen Fällen dürfte wieder die Zahl der zerfallenden Blutkörperchen eine so geringe sein, daß N-haltige Zersetzungsprodukte nicht in nachweisbarer Menge an den Harn abgegeben wurden: das Verhalten der N-Ausscheidung in den Versuchsreihen 1 und 2 dürfte vielleicht auf diese Weise zu erklären sein.

---

[1]) Soll wohl heißen: „in den Blutkörperchen enthaltene . . ."

[2]) l. c.

[3]) l. c.

[4]) Werner Schultz. Bleibt artgleiches Blut bei der Transfusion erhalten? Arch. f. klin. Med. 84, 541, 1901.

II. Die Wasserausscheidung.

(S. die Tabellen VIII, S. 119 und XI, S. 120.)

Dadurch, daß unsere Versuchstiere in den meisten Versuchsreihen (3 bis 6) innerhalb einer Versuchsreihe vor und nach der Transfusion immer dieselbe Menge Trinkwasser erhielten und sowohl der Wasserdampf der Exspirationsluft wie auch das Harnwasser bestimmt wurden, läßt sich direkt beweisen, daß in den Versuchsreihen 1 bis 5 nach der Transfusion eine Verringerung der Wasserabgabe, also eine — zumindest relative — Wasserretention stattgefunden hat.

Tabelle XIII.

Versuchsreihe	Wasser im Harn				Gesamte Wasserabgabe			
	vor der Transfusion	nach der Transfusion	Veränderung		vor der Transfusion	nach der Transfusion	Veränderung	
	g	g	g	%	g	g	g	%
1	8,77	10,12	+ 1,35	+ 15,4	30,61	28,78	− 1,83	− 6,0
2	19,70	17,35	− 2,35	− 11,9	45,36	39,45	− 5,91	− 13,0
3	20,15	19,20	− 0,95	− 4,7	61,02	46,63	− 14,39	− 23,5
4	22,45	19,70	− 2,75	− 12,2	64,78	56,49	− 8,29	− 12,8
5	22,30	23,10	+ 0,80	+ 3,6	47,60	52,65	+ 5,05	+ 10,6
Mittelwerte			—	− 0,78			− 5,05	− 8,9

Diese Verringerung betrifft in den genannten Versuchsreihen die Wasserdampfabgabe an die Exspirationsluft, in drei (2, 3, 4) von den fünf Versuchsreihen auch die des Harnwassers. (In Versuchsreihe 1 wurde die Harnmenge vor der Transfusion bloß in einem Versuche bestimmt. Versuchsreihe 5 ist aber diejenige, in der das Tier 43,5 g Blut pro 1 kg Körpergewicht transfundiert erhielt [gegen 17,6 bis 25 g in den übrigen Versuchsreihen], wodurch die Menge seines Blutes um etwa 40% vermehrt und begreiflicherweise eine Erhöhung der Diurese verursacht wurde.)

Für die Ursachen der Verringerung der Wasserausscheidung finden wir in meinem Versuche keine rechte Erklärung; hierzu hätte es einer Bestimmung der Veränderungen in der Konzentration des Blutes sowie in der Menge der im Harn entleerten Salze bedurft. — Mangels dieser Untersuchungen bin ich bloß in der Lage, auf die Möglichkeit hinzuweisen, daß die im in-

fundierten Blut enthaltenen Salze frei wurden, jedoch zunächst nicht in den Harn, sondern in die Gewebe gelangten, und zwar gleichzeitig mit einer angemessenen Menge Wassers.

Auch ist es nicht unmöglich, daß gewisse organische Zersetzungsprodukte ebenfalls nicht gleich in den Harn, sondern erst in die Zellen verschiedener Gewebe gelangen und, gleich den Salzen, eine nach den Geweben gerichtete Strömung von Gewebswasser hervorrufen.

Die Retention von Wasser durch das bei der Transfusion neu entstandene Blutgemisch ist ebenfalls möglich, folgt jedoch weder aus den Befunden einzelner Autoren über hydrämische Veränderungen des Blutes nach homogener Transfusion (Ott, Hédon, Schultz), noch aus meinen Befunden; vollends bewiesen könnte sie erst werden durch fortlaufende und genaue Bestimmung der Zahl der roten Blutkörperchen, der Menge des Trockenrückstandes des Blutes und der gesamten Blutmenge.

Ohne auf die Möglichkeit hinweisen zu wollen, daß es auch in meinen Versuchen zu einer hydrämischen Veränderung des Blutes gekommen ist, — und ohne die von den Autoren beobachtete Hydrämie von einer Verdünnung des Blutes durch den Hinzutritt von retiniertem Wasser ableiten zu wollen, scheint es mir doch wichtig, zu betonen, daß es sich hier offenbar um recht komplizierte Vorgänge und das Ineinandergreifen verschiedener Faktoren handeln dürfte. Denn es ist recht auffallend, daß diese sog. Hydrämie gerade von denjenigen Autoren (Ott, Hédon und Schultz) gefunden wurde, die der Transfusion einen ausgiebigen Aderlaß vorausschickten — und gerade von denjenigen (Tschirief, Quincke und Geelmuyden) vermißt wurde, die keinen Aderlaß vorausschickten.

Auffallend ist es ferner, daß die Minderausscheidung von Wasser in den Hungerversuchsreihen 1 bis 4[1]) mehr oder minder stark ausgeprägt zu konstatieren war, in der Versuchsreihe 6 dagegen am regelmäßig ernährten Tiere gänzlich fehlte, womit es im Einklang steht, daß auch Geelmuydens und Quinckes Versuchstiere, die kein hydrämisches Blut hatten, gefütterte Hunde waren. (In den meisten übrigen der erwähnten Arbeiten fehlen die auf den Ernährungszustand der Tiere bezüglichen

[1]) Versuchsreihe 5 fällt hier, wie erwähnt, außer Betracht, da die infundierte Blutmenge eine übergroße war.

Daten in den Versuchsprotokollen.) Auf die Bedeutung der nach der Transfusion verringerten Wasserausscheidung werde ich noch weiter unten zurückkommen.

III. Die Kohlensäureproduktion.

Die Menge der in 24 Stunden produzierten CO_2 (Tabelle VIII) nimmt in allen Versuchsreihen, von Versuch zu Versuch, ab, was ja bei dem in den Hungerreihen 1 bis 5 besonders stark abnehmenden Körpergewicht der Tiere selbstverständlich ist. — Wenn wir jene Mengen auf die Körpergewichtseinheit (Tabelle XI) reduzieren und die Mittelwerte aller Versuche vor und nach der Transfusion vergleichen (s. Tabelle XIV), so sehen wir, daß die CO_2-Produktion nach der Transfusion in 2 Versuchsreihen (4 und 6) unverändert bleibt, in 4 Versuchsreihen (1, 2, 3 und 6) um 2,7 bis 10% abnimmt. Aus den Daten der Tabellen VII und VIII läßt sich auch der O_2-Verbrauch, daher auch der respiratorische Quotient berechnen; bei der Unsicherheit jedoch, die solchen indirekten Bestimmungen eigen ist, sind auch die auf diesem Wege erhaltenen Werte sowohl für den O_2-Verbrauch als auch für den respiratorischen Quotienten nicht hinreichend genau und eindeutig, um irgendwelche Schlüsse zu gestatten. Deshalb habe ich sie in die genannten Tabellen nicht aufgenommen.

Tabelle XIV.

CO_2-Produktion pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht.

Versuchsreihe	vor der Transfusion g	nach der Transfusion g	Veränderung g	Veränderung %
1	16,55	15,88	−0,68	− 4,1
2	19,02	17,12	−1,90	−10,0
3	21,05	20,00	−1,05	− 5,0
4	16,86	16,90	+0,04	± 0
5	15,71	15,29	−0,42	− 2,7
6	24,89	24,91	+0,02	± 0

Respirationsversuche, an Tieren vor und nach der Transfusion artgleichen Blutes vorgenommen, liegen nur von Albertoni und Delchef vor.

Albertoni[1]) fand an einem Kaninchen und an zwei Meerschweinchen, die 29, 68 resp. 51 g defibriniertes Blut pro 1 kg

[1]) l. c.

Körpergewicht, d. h. 41 bis 97% ihres Eigenblutes in die Jugularis injiziert erhielten, die CO_2-Produktion um 16, 11 resp. 10% erhöht. Da diese Versuche bloß je 2 Stunden dauerten und die Wirkung der Transfusion unmittelbar nach dem vorgenommenen Eingriff untersucht wurde, dürften ihre Resultate mit den Resultaten meiner Versuche kaum zu vergleichen sein. In diesen dauerte nämlich, wie aus Tabelle VII zu ersehen ist, jeder Respirationsversuch ca. 20 Stunden, so daß eine Steigerung der CO_2-Produktion für kurze Zeit auch an meinen Hunden eingetreten sein mag, bei der langen Versuchsdauer jedoch nicht zum Ausdruck gelangte. Anderseits erhielten meine Hunde nur so viel Blut transfundiert, daß die Menge ihres Blutes dadurch um etwa 32% vermehrt wurde.

Was über Albertonis Versuche soeben gesagt wurde, gilt in noch höherem Grade von Delchefs[1]) Versuchsreihen, der seinen Hunden 86, 106, 124 (!) resp. 75 g Blut pro 1 kg Körpergewicht, also 107 bis 177% (!) ihres Eigenblutes direkt aus der Carotis eines anderen Hundes in die Vena Jugularis transfundierte und den Gaswechsel in 1/4- bis 1/2 stündigen Versuchen untersuchte. Er fand, daß die Menge der produzierten CO_2 in einem Versuche um 1% abgenommen, in drei Versuchen aber um 48, 85 resp. 35% zugenommen hatte, gibt aber selbst an, daß diese Zunahme, die mit einem ähnlich stark gesteigertem O_2-Verbrauch einherging, der starken Dyspnoe des Tieres zuzuschreiben sei. Bei der Menge des transfundierten Blutes, die oft ein Mehrfaches des Eigenblutes des Tieres ausmacht, ist dies auch gar nicht zu verwundern.

Es läßt sich aus unseren Versuchen mit Sicherheit darauf schließen, daß der Transfusion in der Regel eine geringe Verminderung der CO_2-Produktion folgt. — Die Deutung dieser Erscheinung werde ich bei Besprechung der Wärmeproduktion versuchen.

IV. Der Fettverbrauch.

Aus den erwähnten Daten des Eiweißstoffwechsels, aus der Menge des C in der exspirierten CO_2, sowie in Harn und

[1]) J. Delchef, Influence de la saignée et de la transfusion sur la valeur des échanges respiratoires. Arch. internat. de physiol. 3, 1905 bis 1906.

Faeces habe ich unter Vernachlässigung des Glykogens den 24stündigen Fettverbrauch (Tab. IX und X) berechnet. Wenn wir diese Werte auf die Körpergewichtseinheit reduzieren (Tab. XII) und dann in den Versuchsreihen 1 bis 6 die Mittelwerte aller Versuche vor und nach der Transfusion vergleichen (Tab. XV), finden wir, daß infolge der Transfusion der Fettverbrauch in den Versuchsreihen 1 bis 5 ansehnlich, und zwar um 1,7 bis 10,8 % abgenommen hat; in Versuchsreihe 6 hatte vor der Transfusion eine Ablagerung von Fett (1,67 g) stattgefunden, die nach der Transfusion auf 2,09 angestiegen war, also um 25 % zugenommen hat.

Tabelle XV.

Fettverbrauch pro 24 Stunden und 1 kg.

Versuchsreihe	vor der Transfusion	nach der Transfusion	Veränderung	
	g	g	g	%
1	4,65	4,57	−0,08	− 1,7
2	5,00	4,63	−0,37	− 5,4
3	6,19	5,54	−0,65	−10,5
4	5,41	5,07	−0,34	− 6,3
5	3,71	3,49	−0,22	− 5,9
6	−1,67[1])	−2,09[1])	−0,42	−25,0

Die Abnahme des Fettverbrauchs in den Versuchsreihen 1 bis 5, sowie die Zunahme der Fettablagerung in Versuchsreihe 6 sind homologe Erscheinungen und lassen die Deutung zu, daß der Tierkörper zur selben Zeit, in der er einen Teil des durch die Transfusion ihm zugeführten Eiweißes zersetzt, gleichzeitig mehr oder weniger an Fett erspart, was ein recht interessantes Gegenstück zur Eiweißsparung auf Kosten vom Fett darstellen würde, wie dies als Folge größerer Blutverluste bereits von mir nachgewiesen wurde.

Ich muß jedoch bemerken, daß diese Berechnung des Fettverbrauches nicht nur wegen der Vernachlässigung des Glykogens, sondern auch deshalb unsicher ist, weil — wie es weiter unten auseinandergesetzt wird, wahrscheinlich unvollständig oxydierte Zerfallsprodukte zurückbleiben, so daß ein Teil des im Körper gebliebenen C sicher in diesen und nicht im Fett enthalten ist.

[1]) Fettverbrauch mit negativem Vorzeichen bedeutet hier Fettablagerung.

V. Der Energieumsatz.

Aus den im vorangehenden Abschnitte behandelten, für den Eiweiß- und Fettverkehr ermittelten Werten habe ich unter Berücksichtigung der Energieausgaben im Harn (sowie auch des Kotes in Versuchsreihe 6) die Wärmeproduktion pro 24 Stunden berechnet (Tab. IX und X) und mit Ausnahme der Versuchsreihe 6 auch durch direkte Calorimetrie nach Rubner bestimmt (Tab. XI). Ich habe sodann alle diese Werte auf 1 kg Körpergewicht bezogen und außerdem den Unterschied zwischen den direkt und den indirekt erhaltenen Werten auch prozentisch berechnet (Tab. XII). Ein Vergleich der Mittelwerte aus allen Versuchen vor und nach der Transfusion ergibt nun das bemerkenswerte Ergebnis, daß die Wärmeproduktion nach der Transfusion, indirekt bestimmt, in 5 von 6 Versuchsreihen um 0,4 bis 9,2% abgenommen, direkt bestimmt aber in 4 von 5 Versuchsreihen um 2,0 bis 13,2% zugenommen

Tabelle XVI.
Wärmeproduktion pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht.

Versuchsreihe	Indirekte Calorimetrie				Direkte Calorimetrie			
	vor der Transfusion	nach der Transfusion	Veränderung		vor der Transfusion	nach der Transfusion	Veränderung	
	kg-cal.	kg-cal.	kg-cal.	%	kg-cal.	kg-cal.	kg-cal.	%
1	53,24	52,13	−1,11	−2,1	54,36	61,52	+7,16	+13,2
2	61,65	55,95	−5,70	−9,2	64,52	60,40	−4,12	− 6,40
3	69,18	66,64	−2,49	−3,6	70,55	72,35	+1,85	+ 2,6
4	56,05	56,06	±0	±0	56,32	57,50	+1,17	+ 2,1
5	50,35	48,93	−1,42	−2,8	52,22	53,25	+1,03	+ 2,0
6	66,79	66,52	−0,27	−0,4	—	—	—	—

hat (s. Tab. XVI). Es ist wohl richtig, daß die Ab- und Zunahmen in weitaus den meisten Fällen durch so kleine Ziffern ausgedrückt werden, die den Grenzen der zulässigen Fehler der calorimetrischen Methodik (ob direkter oder indirekter) recht nahe kommen; da aber diese Veränderungen in 5 von 6, resp. in 4 von 5 Versuchsreihen dieselbe — bei verschiedener Methodik allerdings entgegengesetzte — Richtung haben, so ist es so gut wie ausgeschlossen, daß es sich hier um ein Spiel des Zufalls handeln könnte. Dies um so mehr, als für

die Wärmeproduktion in den vor der Transfusion angestellten Versuchen (Nr. 1, 2, 5, 6, 9, 10, 14, 15, 18,[1]) 19[1])) nach beiden Methoden gut übereinstimmende Werte (direkt um 2,58% im Durchschnitt mehr) erhalten wurden, während in den Versuchen 3, 4, 7, 8, 11, 12, 13, 16, 17, 20, die nach der Transfusion vorgenommen wurden, mit der direkten Calorimetrie um 8,65% mehr gefunden wurden. Wenn wir daher die Wärmeproduktion, nach der Transfusion direkt gemessen, erhöht, indirekt bestimmt aber verringert finden, muß dieser Unterschied in der Methodik selbst begründet sein, und da drängen sich zwei Fragen von selbst auf:

1. Durch welche der beiden Methoden wird die Wärmeproduktion richtig bestimmt?

2. Was verursacht den auffallenden Unterschied in den beiden für die Wärmeproduktion nach der Transfusion erhaltenen Werte, die durch direkte und indirekte Calorimetrie erhalten wurden?

Bei direkter Calorimetrie ist die durch die Strahlung, Leitung und im Wasserdampf der Ventilationsluft abgegebene Wärme — um die aus der Gewichts- und Temperaturveränderung des Tierkörpers berechnete Wärmemenge korrigiert — identisch mit der Wärmeproduktion. Die indirekte Calorimetrie hingegen, d. h. die Berechnung der Wärmeproduktion aus den Stoffzersetzungen ist — abgesehen von der Ungenauigkeit, die durch die Vernachlässigung des Glykogens bedingt wird — nur in der Voraussetzung richtig, daß die bei der Zersetzung der Körper- oder Nährstoffen entstehenden Produkte in den Ausscheidungen (Exspirationsluft, Exkrete) alsobald erscheinen und nachgewiesen werden können. Finden jedoch mit positiver Wärmetönung einhergehende Zersetzungen statt — wobei nicht ganz abgebaute sog. intermediäre Verbindungen im Körper zurückgehalten werden —, so muß diese indirekte Calorimetrie versagen.

Es liegt nun nichts näher als anzunehmen, daß das transfundierte Blut nicht nur, wie oben bereits erörtert wurde, N-haltige Stoffwechsel-Endprodukte in nachweisbar erhöhter

---

[1]) Versuche Nr. 18 und 19 gehören streng genommen nicht hierher, da sie allerdings knapp vor einer, jedoch auch 10 resp. 18 Tage nach einer Transfusion angestellt wurden.

Menge an den Harn abgibt, sondern teilweise auch solchen unvollkommenen Abbauprozessen unterliegt, die mit einer positiven Wärmetönung einhergehen, ohne aber, daß die dabei entstandenen Zersetzungsprodukte gleich ausgeschieden und so in Rechnung gezogen werden könnten. Solche unvollkommenen Oxydationsprozesse können auch die S. 136 erwähnte Verringerung der CO_2-Ausscheidung verursacht haben, indem hierbei gerade die am weitesten oxydierten Verbindungen in geringerer, die weniger weit abgebauten intermediären Produkte aber in größerer Menge gebildet werden. So wird auch der scheinbar paradoxe Befund erklärlich, daß die nachgewiesenermaßen erhöhte Wärmeproduktion mit einer Verminderung der CO_2-Produktion einhergeht. Dieser Auffassung widerspricht auch der Umstand nicht, daß der calorische Quotient des Harns (Cal : N) nach der Transfusion in einigen Versuchsreihen unverändert geblieben ist, in anderen wieder angestiegen, resp. abgefallen ist. Wenn nämlich die unvollkommenen Oxydationsprodukte nicht entleert werden, so kann der Quotient unverändert bleiben; wenn N-haltige Zersetzungs-Endprodukte (Harnstoff) in größerer Menge ausgeschieden werden, so kann er kleiner werden; wenn unvollkommen oxydierte, C-reiche Produkte in solcher Menge gebildet werden, daß sie auch in den Harn übergehen, kann der Quotient größer werden.

Es ist also gerechtfertigt, die Ergebnisse der direkten Calorimetrie als die richtigen anzusehen und dementsprechend auszusprechen, daß die Transfusion arteigenen Blutes in der Regel von einer geringen, jedoch nachweisbaren Steigerung der Wärmeproduktion gefolgt wird. — Legen wir uns die Frage nach der Ursache der gesteigerten Wärmeproduktion zur Beantwortung vor, so liegt es am nächsten, diese Steigerung als Ausdruck irgend einer Mehrleistung des Organismus aufzufassen: eine solche ist die Beförderung der durch die Transfusion vermehrten Blutmenge durch das Herz. Denn obzwar es durch die bereits öfter zitierten Arbeiten bewiesen ist, daß sowohl ein Teil des Plasma, als auch ein mehr oder minder großer Teil der roten Blutkörperchen aus dem Blutkreislaufe verschwindet, so ist es doch ebenso sicher, daß die Menge des kreisenden Blutes für lange Zeit hinaus gegen die Norm vermehrt bleibt.

So fand bereits Tschirief, daß das durch Verbluten der transfundierten Hunde zu erhaltende Blutvolumen gegen die Norm erheblich vermehrt sei. Auch Quincke ist der Ansicht, daß: „in manchen Fällen längere Zeit nach der Transfusion eine Vermehrung der Blutmenge fortbestehen . . . “ kann. Wenn wir für unsere Versuchsreihen 1 bis 4 (von Versuchsreihe 5 will ich wieder absehen) das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere zu 5,7 kg, ihr Eigenblut zu 400 g rechnen, so bedeutet eine Vermehrung dieses Quantums um durchschnittlich 127 g transfundierten Blutes einen Zuwachs von 32°/₀. Die Beförderung der so beträchtlich vermehrten Blutmenge (die — wie wir oben gesehen haben — für recht lange Zeit bestehen bleiben kann) geht offenbar mit einer erhöhten Arbeitsleistung des Herzens, also auch mit einer entsprechend gesteigerten Wärmeproduktion einher. Die Herzarbeit kann in diesen Fällen auch dann noch gesteigert sein, wenn durch eine Verringerung des Blutgefäßtonus, daher auch des Blutdruckes die Herzarbeit teilweise kompensatorisch verringert wird. Da in meinen Versuchen eine Bestimmung des Blutdruckes nicht vorgenommen wurde, kann ich mich über diesen Punkt nicht äußern.

VI. Die Wärmeabgabe.

Eine recht bemerkenswerte Veränderung der Wärmeabgabe, die durch die Transfusion veranlaßt wird, finden wir, wenn wir dieselbe — in ihre beiden Komponenten zerlegt — analysieren. Es sind das:

1. Die Wärme, die durch Strahlung (an das Calorimeter) und durch Leitung (an die Ventilationsluft) abgegeben, — und

2. Die Wärme, die im Wasserdampf der Expirationsluft „gebunden“ abgeführt wird.

Wenn wir für diese beiden Arten der Wärmeausgabe in allen Versuchen die Mittelwerte vor und nach der Transfusion berechnen und miteinander vergleichen (s. Tab. XVII und XVIII), so sehen wir einerseits die bereits erörterte Abnahme des Wasserdampfes in der Exspirationsluft, resp. der darin abgegebenen Wärme, u. z. im Mittel der Versuche um etwa 4,2 Cal., anderseits aber, daß die andere Komponente, d. i.

die Abgabe durch Strahlung usw., in vier von fünf Versuchen ebenso erheblich u. z. im Mittel aller Versuche um einen ähnlichen Betrag, 5,44 Cal., zugenommen hat.

Tabelle XVII.

Wärmeabgabe pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht durch direkte Calorimetrie bestimmt.

(Versuchsreihen 1 bis 5.)

Versuchsreihe	Versuchsnummer	Wievielter Hungertag	Wärmeabgabe in kg.-Kal. an das Calorimeter abgegeben	mit der Ventilationsluft abgeführt	Verdampfungswärme des Wasserdampfes in der Ventilationsluft
1	1	6	36,62	5,07	12,54
	2	8	39,04	5,95	12,83
	3	9	—[1])	5,16	10,90
	4	10	46,68	4,25	11,01
2	5	3	45,36	5,16	15,41
	6	4	45,41	4,29	14,45
	7	5	45,90	4,22	12,81
	8	6	41,70	4,27	13,16
3	9	3	41,88	4,11	24,31
	10	4	44,81	4,22	23,71
	11	6	50,31	5,04	16,94
	12	7	53,95	4,79	15,28
	13	11	48,96	4,06	16,17
4	14	2	29,49	3,27	27,27
	15	4	28,92	3,49	25,39
	16	6	32,57	3,38	21,77
	17	8	35,47	3,60	21,45
5	18	22	34,89	3,83	13,13
	19	24	33,55	3,66	15,41
	20	26	38,04	3,02	13,58

Die beiden Arten der Wärmeabgabe haben also Veränderungen der entgegengesetzten Richtung, aber nicht ganz gleicher Größe, erlitten, so zwar, daß die Abnahme der einen, von der Zunahme der anderen noch um einen geringen Betrag übertroffen wurde.

[1]) Spirometerkurven infolge äußerst großer Barometerschwankungen nicht zu berechnen!

Tabelle XVIII.

Wärmeabgabe in 24 Stunden pro 1 kg Körpergewicht.

Versuchsreihe	Durch Strahlung (an das Calorimeter) und Leitung (an die Ventilationsluft)				Im Wasserdampf der Expirationslufts			
	vor der Transfusion	nach der Transfusion	Veränderung		vor der Transfusion	nach der Transfusion	Veränderung	
	kg-cal.	kg-cal.	kg-cal.	%	kg-cal.	kg-cal.	kg-cal.	%
1	43,34	50,93	+ 7,59	+ 17,5	12,68	10,90	− 1,73	− 14,0
2	50,10	48,04	− 2,06	− 0,4	14,93	12,98	− 1,95	− 13,1
3	47,50	55,70	+ 8,20	+ 17,2	24,01	16,13	− 7,88	− 32,8
4	32,57	37,51	+ 4,94	+ 15,2	26,33	21,61	− 4,72	− 17,9
5	37,96	41,06	+ 3,10	+ 8,2	14,27	13,58	− 0,69	− 4,8
Mittelwerte			+ 5,44	+ 11,5			− 4,24	− 16,5[1]

Ich glaube, mit der Annahme nicht fehl zu gehen, daß die Verringerung der Wasserausscheidung, von der S. 134 die Rede war, die Steigerung der Wasserabgabe durch Strahlung und Leitung herbeigeführt hat: im Großen und Ganzen hat letztere um so viel zugenommen, als die erstere abgenommen hat. Es ist dies ein bemerkenswerter Kompensationsvorgang in der Regulierung der Wärmeabgabe, um so mehr, als sie weder von der Temperatur, noch von dem Gehalt der Umgebung an Wasserdampf ausgelöst wird. Die exakt funktionierende gegenseitige Kompensation der beiden Komponenten der Wärmeabgabe hat, falls eine derselben eine Veränderung erfährt, bei unveränderter Wärmeproduktion das Konstantbleiben der Körpertemperatur zur Folge. Handelt es sich aber, wie in unseren Versuchen, außerdem noch um eine Steigerung der Wärmeproduktion, und ist die ohnehin bereits verringerte Wärmeabgabe im Wasserdampf einer Steigerung nicht fähig, so wird von der Körperoberfläche durch Strahlung und Leitung nicht nur kompensatorisch so viel Wärme abgegeben, als der Verringerung der Wasserverdampfung entspricht, sondern um so viel mehr, als eben der gesteigerten Wärmeproduktion ent-

[1]) Indem die im Wasserdampf abgeführte Wärme die bei weitem geringere Componente darstellt, ihre Veränderung aber, absolut genommen, ebenso groß wie die der anderen Komponenten ist, muß diese Veränderung, prozentual berechnet, selbstverständlich weit größer als bei jener ausfallen.

spricht: Die Körpertemperatur bleibt demnach, durch das Eingreifen der physikalischen Regulierung, auch in diesem Falle unverändert.

In der Tat hatten wir — wie auch Quincke — nie eine Steigerung der Körpertemperatur unserer Versuchstiere beobachtet, während Albertoni regelmäßig eine 24 Stunden lang andauernde Steigerung fand.

Ich muß es allerdings als eine Unterlassung bezeichnen, daß die Temperatur unserer Versuchstiere bloß einmal täglich, u. z. je am Beginn und am Ende eines Respirationsversuchs, bestimmt wurde; immerhin glaube ich aber, daß eine einigermaßen beträchtliche Temperatursteigerung uns auch so nicht entgangen sein konnte, und namentlich die genaue Übereinstimmung nicht möglich wäre, die die Temperaturen im Mittelwerte aller Versuche vor und nach der Transfusion in Tab. XIX zeigen.

Tabelle XIX.

Versuchsreihe	Vor der Transfusion	Nach der Transfusion
1	38,6	38,4
2	38,6	38,6
3	38,6	38,9
4	39,0	39,0
5	38,6	37,7
6	38,2	38,2
Mittelwerte	38,4	38,5

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich in Folgendem zusammenfassen:

Wenn man aus der Arterie eines Hundes eine größere Menge Blut direkt in die Vene eines anderen Hundes transfundiert, wird bei letzterem Tiere:

1. eine Steigerung der N-Ausscheidung im Harn, als Zeichen eines vermehrten Eiweißzerfalles herbeigeführt;

2. gleichzeitig scheint der Fettverbrauch eingeschränkt zu sein, was jedoch nicht sicher nachgewiesen wurde;

3. am Hungertiere ist bei unveränderter Wasserzufuhr nach der Transfusion eine erhebliche Ein-

schränkung der Wasserabgabe zu beobachten; am gefütterten Tiere ist diese Veränderung nicht nachzuweisen;

4. Die Wärmeproduktion erfährt eine geringe, jedoch nachweisbare Steigerung, hauptsächlich als Folge der vom Herzen geleisteten Mehrarbeit bei der Beförderung der vermehrten Blutmenge;

5. Durch die Verringerung der Wasserdampfabgabe nach der Transfusion erleidet die gesamte Wärmeabgabe keinen Abbruch, da die durch Strahlung abgegebene Wärme eine Zunahme erfährt, die jener Abnahme beiläufig gleichkommt.

(Die Versuche wurden teilweise unter Mithilfe der Herren R. Somogyi und D. Horváth ausgeführt.)

Beiträge zur Kenntnis der Fettverdauung.

Von

Stefan von Pesthy.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Der Grad der fortschreitenden Fettverdauung läßt sich leicht berechnen, sobald die Menge eines oder beider bei der Zerlegung des Fettes entstandenen Spaltungsprodukte bekannt ist. In der Tat beruhen die Methoden, die diesem Zweck dienen sollen, auf quantitativer Bestimmung eines Spaltungsproduktes der Fette: der Fettsäuren.

Nun läßt sich zwar mit großer Wahrscheinlichkeit voraussetzen, daß unter der Einwirkung von Verdauungsenzymen aus den Fetten Fettsäuren und Glycerin in solchem Verhältnis abgespalten werden, wie es der chemischen Formel entspricht und bei der Verseifung mit Laugen auch tatsächlich erfolgt.

Um dies aber auch sicher behaupten zu können, müssen beide Spaltungsprodukte: sowohl Fettsäuren als wie Glycerin quantitativ bestimmt werden. Es ist dabei noch zu bedenken, daß in lecithinhaltigen Verdauungsgemischen, z. B. Eidotteremulsion, wie sie ja in zahlreichen Studien über Fettverdauung, darunter auch über Magenlipase, vielfach verwendet wurden, Fettsäuren nicht nur aus Fett, sondern auch aus Lecithin abgespalten werden.

Meines Wissens wurde bisher weder der Beweis dafür erbracht, daß die Fette durch Verdauungsfermente glatt in Fettsäuren und Glycerin zerlegt werden, noch ist auch die Menge des während der Verdauung abgespaltenen Glycerins bestimmt worden. Durch die quantitative Bestimmung beider Spaltungs-

produkte ist es möglich, auch das Mengenverhältnis der Spaltungsprodukte während der Verdauung in verschiedenen Stadien zu verfolgen.

Daß in Fettverdauungsversuchen eine quantitative Bestimmung des Glycerins nicht vorgenommen wurde, erklärt sich einfach daraus, daß wir erst seit kurzem über eine Methode verfügen, mit der auch kleine Mengen des Glycerins sicher und mit großer Genauigkeit bestimmt werden können, die aber ihrerseits, auf tierische Flüssigkeiten angewendet, sehr viel Umsicht und eine langwierige Vorbereitung der auf ihren Glyceringehalt zu prüfenden Flüssigkeit erfordert.

Es ist dies das Zeisel-Fantosche[1]) sog. Jodidverfahren, das von Tangl und Weiser[2]) auch zur Bestimmung des Glyceringehaltes des Blutes erfolgreich verwendet wurde. Das Wesen des Verfahrens[3]) besteht darin, daß eine Lösung von Glycerin mit Jodwasserstoffsäure gekocht, flüchtiges Isopropyljodid gibt, das, in eine alkoholische Lösung von Silbernitrat geleitet, dort einen Niederschlag von Silberjodid bildet, der am Filter gesammelt, trocken gewogen und auf Glycerin berechnet wird.

Zweck meiner Untersuchungen war einerseits die Wirkung fettspaltender Enzyme, wie der Magenlipase und des Pankreassteapsins durch Bestimmung der abgespaltenen Fettsäuren als auch des Glycerins zu verfolgen; ferner das Verhältnis der beiden Spaltungsprodukte auch in solchen Verdauungsgemischen zu bestimmen, die, wie wir oben erwähnt haben, infolge ihres Lecithingehaltes zu Verdauungsversuchen nicht geeignet sind. Dadurch wurde es mir möglich auch auf einige die Magenlipase betreffende strittige Fragen näher einzugehen.

In einer zweiten Reihe von Versuchen untersuchte ich, wieviel freies Glycerin sich während der Verdauung im Darmkanal vorfindet und in welchem Verhältnisse es zu den dort befindlichen freien Fettsäuren steht. Über diese vom Standpunkte der Fettresorption recht interessante Frage ist derzeit noch nichts näheres bekannt.

---

[1]) Zeisel und Fanto, Zeitschr. f. d. landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich 5, 1902, und Zeitschr. f. anal. Chem. 42.

[2]) Tangl und Weiser, Arch. f. d. ges. Physiol. 115, 1906.

[3]) Betreffs genauer und erschöpfender Beschreibung des Verfahrens verweise ich auf die angeführten Mitteilungen.

I. Verdauungsversuche mit Magenlipase und Pankreassteapsin.

1. Methodik.

Zur Beurteilung meiner Versuchsergebnisse erachte ich es für notwendig, die bei den Untersuchungen angewendeten Verfahren und Methoden eingehend zu beschreiben.

Zu den Verdauungsversuchen habe ich einerseits Eidotter, anderseits Olivenöl, beide immer als Emulsion verwendet. Eidotter wurde vom Eiweiß vollständig getrennt, gewogen und mit Wasser so lange verrieben, bis sich eine gleichförmige Emulsion bildete. Aus Oleum olivarum wurde mit Gummi arabicum und Wasser eine ca. $4\,^0/_0$ige Emulsion bereitet. In beiden Emulsionen wurde zunächst durch Ausschütteln mit Petroläther bestimmt, ob resp. wieviel freie Fettsäuren sie bereits ursprünglich enthielten; ferner auch die Menge der gesamten, also auch der in Form von Fett (oder Seifen) enthaltenen Fettsäuren bestimmt.

Zu den Untersuchungen über Magenlipase verwendete ich filtrierten Magensaft teils von verschiedenen Versuchspersonen nach einer Probemahlzeit, teils von Hunden, denen nach zweitägigem Fasten eigens zubereitetes gemischtes Futter verabreicht wurde und die dann eine Stunde später durch subcutane Einspritzung von 1 bis 2 g Apomorphin zum Erbrechen gebracht wurden. In den Magensäften wurde zuerst mit Phenolphthalein als Indicator die gesamte Acidität, mit Kongo als Indicator die freie Salzsäure bestimmt, sodann nach dem Mettschen Verfahren auf Eiweißverdauung und mit einer Lösung von Eisenchlorid auf Milchsäure geprüft.

Eine Lösung von Pankreassteapsin wurde auf folgende Weise hergestellt: Frisches Rindspankreas wurde von Bindegewebe und Fett befreit, mittels der Fleischhackmaschine zerkleinert, in einem Mörser mit Quarzsand und ein wenig Wasser zu feinem Brei verrieben und mit der Buchnerschen Presse (300 Atmosphären) ausgepreßt. Der so erhaltene ziemlich reichliche Saft wurde durch Zusatz einer geringen Menge von 2 n-Calciumchlorid aktiviert und erwies sich immer und in jeder Hinsicht wirksam; es wurde mit demselben eine vorzügliche Spaltung des Fettes erzielt.

In einer Versuchsreihe verwendete ich den flüssigen Inhalt einer menschlichen Pankreascyste, die auf der hiesigen I. chirurgischen Universitätsklinik operativ entfernt wurde.

Die Verdauungsversuche selbst wurden in folgender Weise ausgeführt:

1. Mittels Pipette abgemessene Mengen der Emulsion und des Verdauungssaftes wurden in je einem Erlenmeyerschen Kolben vermischt, zur Verhinderung der Fäulnis mit Toluol versetzt und 24 resp. 48 Stunden lang bei 37,5 bis 38° C im Thermostaten belassen.

2. Dieselbe Menge der Emulsion wurde mit derselben Menge destillierten Wassers oder — wenn er reichte — des aufgekochten Verdauungssaftes, wie bei 1., in je einem Kolben vermischt und ebenfalls 24 resp. 48 Stunden unter Zusatz von Toluol im Thermostaten belassen. Mit diesen Versuchen sollte kontrolliert werden, ob nicht eine Fettspaltung auch ohne fettspaltende Enzyme stattgefunden hatte.

Das Vorschreiten der Fettspaltung stellte ich in folgender Weise fest:

a) Nach Ablauf der 24 resp. 48 Stunden wurde je ein mit der Pipette genau abgemessener Teil der Gemische 1. und 2. mit Petroläther gut ausgeschüttelt und ein aliquoter Teil des Petroläthers mit alkoholischer $^{n}/_{10}$-Lauge titriert. Aus der Menge der verbrauchten Kalilauge wurde die Menge der abgespaltenen Fettsäuren einerseits (in Milligrammäquivalenten ausgedrückt) berechnet, andererseits auf Fett umgerechnet. Die Umrechnung erfolgte bei den Versuchen mit Eidotteremulsion auf Grund des durchschnittlichen Gehaltes des Dotterfettes an verschiedenen Fettsäureradikalen mit Hilfe des Faktors 0,0283. Die verbrauchten Kubikzentimeter der $^{n}/_{10}$-Lauge, multipliziert mit diesem Faktor, ergeben die entsprechende Menge des gespaltenen Fettes in Grammen. In den Versuchen mit Olivenöl wurde die Berechnung mittels des Faktors 0,0294 durchgeführt. Die Menge der so erhaltenen gespaltenen Fette wurde sodann in Prozenten des ursprünglichen Gesamtfettes umgerechnet.

b) In einem anderen abgemessenen Teile des Gemisches wurden nach der Liebermann-Székelyschen[1]) Verseifungsmethode die gesamten Fettsäuren (freie und gebundene) be-

[1]) Liebermann und Székely, Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 1898.

stimmt, wobei die bei der Endtitration verwendeten Kubikzentimeter der $^{n}/_{10}$-alkoholischen Kalilauge, mit der sub a) erwähnten Verhältniszahl multipliziert, den gesamten Fettgehalt des Gemisches ergaben.

Die Probe b) gab unter anderem einen sehr wertvollen Aufschluß darüber, ob während des Verdauungsversuches nicht etwa ein Teil der aus dem Fett abgespaltenen Fettsäuren verschwunden ist, da ja das Gesamtfett, sofern es keine weitere Zersetzung erfahren hat, in der Menge, wie es in der zum Verdauungsversuche verwendeten Emulsion vorhanden war, unverändert erhalten werden mußte.

c) Den noch übrig gebliebenen dritten Teil des Gemisches verwendete ich zur Bestimmung des Glycerins. Die Mischung wurde verdünnt, mit Essigsäure angesäuert und mit einer $10^{0}/_{0}$igen Lösung von Phosphorwolframsäure im Überschuß versetzt. Der hierbei entstandene Niederschlag besteht aus gefälltem Eiweiß, das auch die Fette der Emulsion mit sich reißt. Die Flüssigkeit wird auf einer Nutsche abgesaugt, mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen, aus dem opalisierenden Filtrat die Phosphorwolframsäure mit Baryt in Überschuß gefällt, filtriert und im Filtrat der überschüssige Baryt durch Einleiten von CO_2 entfernt. Im barytfreien Filtrat sind es nur mehr die Chloride, die die Glycerinbestimmung stören könnten. Sie wurden durch Zusatz von frisch bereitetem Silberoxyd gefällt und filtriert. Die nunmehr bedeutend vermehrte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade auf 25 bis 50 ccm eingeengt und in je 5 ccm derselben die Glycerinbestimmung nach Zeisel und Fanto vorgenommen. Es ist zu bemerken, daß diese vorbereitende Behandlung, soweit es reine Ölemulsionen betrifft, weit mehr Mühe verursacht, weil mangels eines durch Zusatz von Phosphorwolframsäure erzeugten Eiweißniederschlages, der das Öl mechanisch mit sich reißen würde, dieses nur schwer von der Flüssigkeit zu trennen ist.

Der mit dem Jodidverfahren erhaltene Silberjodidniederschlag wurde zuerst auf Glycerin, dann auf Grund der sub a) angeführten Berechnung bei den Emulsionen aus Eidotter durch Multiplikation mit der Verhältniszahl 9,273, bei den Ölemulsionen mit 9,609 auf Fett umgerechnet.

Da die Langwierigkeit der dem Jodidverfahren vorangehenden mannigfachen chemischen Operationen mit Recht Be-

denken erregen kann, ob es unter solchen Umständen möglich ist, auch kleine Mengen Glycerins genau zu bestimmen und ob nicht etwa ein Teil des Glycerins unter den vorbereitenden Manipulationen verloren geht, wurde ein Kontrollversuch in der Weise vorgenommen, daß eine bekannte Menge Glycerin zur Eidotteremulsion hinzugefügt und dann untersucht wurde, ob diese Menge nach dem Vorbereitungsverfahren wieder erhalten werden konnte.

Von ca. 91 %igem Glycerin wurden 5 ccm mit destilliertem Wasser auf 100 ccm verdünnt und in je 5 ccm dieser Lösung das Glycerin mittels des Jodidverfahrens bestimmt. Das Ergebnis war folgendes:

a) Gewicht des Goochschen Tiegels
leer . . . . 7,6142 g
mit AgJ . . . . 8,3318 g = 0,7176 g AgJ

b) Gewicht des Goochschen Tiegels
leer . . . . 7,4004 g
mit AgJ . . . . 8,1172 g = 0,7168 g AgJ
Mittelwert: 0,7172 g AgJ.

0,7172 g AgJ × 0,3922 = 0,27952 g Glycerin in 5 ccm der Lösung; in 50 ccm dieser Lösung waren also 2,7952 g Glycerin enthalten.

Von dieser Glycerinlösung wurden nunmehr 50 ccm mit 50 ccm einer Eidotteremulsion vermischt, die nach einer vorangegangenen Bestimmung kein freies Glycerin enthielt, die Mischung wurde mit Toluol versetzt, 24 Stunden lang im Thermostaten gelassen, in der oben beschriebenen umständlichen Weise vorbehandelt, schließlich auf 100 ccm eingedampft und in je 5 ccm dieser Flüssigkeit die Glycerinbestimmung vorgenommen. Ergebnis:

a) Gewicht des Goochschen Tiegels
leer . . . . 7,4630 g
mit AgJ . . . . 7,8169 g = 0,3539 g AgJ

b) Gewicht des Goochschen Tiegels
leer . . . . 8,0536 g
mit AgJ . . . . 8,4070 g = 0,3534 g AgJ
Mittelwert: 0,3536 g AgJ.

0,3536 g AgJ × 0,3922 = 0,13863 g Glycerin in 5 ccm der Mischung ergeben für die ganzen 100 ccm der Mischung resp. für die ganzen zugefügten 50 ccm der Glycerinlösung 2,7726 g Glycerin.

Da demnach das der Emulsion zugesetzte Glycerin bis auf etwa 1 % wieder erhalten wurde, darf es als sichergestellt betrachtet werden, daß durch das beschriebene vorbereitende Verfahren auch kleine Mengen von Glycerin mit genügender Genauigkeit bestimmt werden können.

2. Fettspaltung mit Magenlipase.

Versuche wurden im ganzen 14 ausgeführt, und zwar 9 mit dem Filtrat von Magensäften, die von Menschen nach einer Probemahlzeit erhalten wurden, und 5 mit dem Filtrat von Hundemageninhalt. Statt einer detaillierten Beschreibung sämtlicher Versuche seien hier als Beispiele deren bloß drei samt den analytischen Daten mitgeteilt.

2. Versuch.

Emulsion: 144 g Eidotter + 800 g Wasser.

a) Freie Fettsäuren in 100 ccm Emulsion: keine.

b) Gesamte „ „ 100 „ „ 22,5 mg äquiv., entsprechend 6,3675 g Fett.

Menschlicher Magensaft nach Probefrühstück erhalten, Gesamtacidität 55, freie Salzsäure 47.

1. 100 ccm der Emulsion + 40 ccm dest. Wasser nach Zusatz von Toluol 24 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäuren auf 100 ccm der Emulsion berechnet: keine.

b) Gesamte Fettsäure „ 100 „ „ „ „ 22,6 mg äquiv., entsprechend = 6,375 g Fett.

c) Kein Glycerin.

2. 100 ccm der Emulsion + 40 ccm Magensaft mit Toluol 24 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäuren auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 4,732 mg äquiv., entsprechend 1,3391 g Fett.

b) Gesamte Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 22,4 mg äquiv., entsprechend 6,3392 g Fett.

c) Rest für Glycerinbestimmung vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, aus je 5 ccm Glycerin bestimmt. Gewicht des AgJ-Niederschlages:

α) 0,0481 g, β) 0,0457 g. In 100 ccm der Emulsion sind also 0,1031 g Glycerin, entsprechend 0,9560 g Fett.

Gesamt-Fett: . . . . 6,3675 g

Gespaltenes Fett berechnet { aus den abgespaltenen Fettsäuren: 1,3391 g = 21,03 %
aus dem gespaltenen Glycerin: 0,9560 g = 15,01 %

3. 100 ccm Emulsion + 40 ccm dest. Wasser mit Toluol 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäuren auf 100 ccm der Emulsion berechnet: keine.

b) Gesamte „ „ 100 „ „ „ „ 24,0 mg äquiv., entsprechend 6,7920 g Fett.

c) Kein Glycerin.

4. 100 ccm der Emulsion + 40 ccm Magensaft mit Toluol 48 Stunden im Thermostaten belassen:

a) Freie Fettsäuren auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 3,29 mg äquiv., entsprechend 0,9310 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäuren auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 25,40 mg äquiv., entsprechend 7,1882 g Fett.

c) Rest für Glycerinbestimmung vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, in je 5 ccm das Glycerin bestimmt. Das Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages:

α) 0,0531 g, β) 0,0534 g. In 100 ccm der Emulsion sind daher insgesamt 0,1970 g Glycerin; entsprechend 1,8267 g Fett.

Gesamt-Fett: . . . . 6,3675 g

Gespaltenes Fett berechnet		
	aus den abgespaltenen Fettsäuren:	0,9310 g = 14,62 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin:	1,8267 g = 28,68 %

10. Versuch.

Emulsion: 90 g Eidotter + 400 g Wasser.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 0,27 mg äquiv., entsprechend 0,0764 g Fett.

b) Gesamte Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 22,18 mg äquiv., entsprechend 6,2769 g Fett.

Magensaft vom Hunde nach Fütterung mit rohem Fleisch und Brot; 1 Stunde später 2 cg Apomorphin subcutan injiziert, das Erbrochene ausgepreßt. Gesamtacidität des erhaltenen Saftes 39, freie Salzsäure keine, Milchsäure schwach positiv.

1. 100 ccm Emulsion + 40 ccm aufgekochten Magensaft + 100 ccm dest. Wasser unter Zusatz von Toluol 24 Stunden lang im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 0,27 mg äquiv., entsprechend 0,0764 g Fett.

b) Gesamte Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen 25,65 mg äquiv., entsprechend 7,2589 g Fett.

c) Kein Glycerin.

2. 100 ccm Emulsion + 40 ccm Magensaft + 100 ccm dest. Wasser + Toluol 24 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 4,536 mg äquiv., entsprechend 1,2837 g Fett.

b) Gesamte Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 24,65 mg äquiv., entsprechend 6,9759 g Fett.

c) Rest für Glycerinbestimmung vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, in je 5 ccm Glycerin bestimmt. Gewicht des AgJ-Niederschlages:

α) 0,0234 g, β) 0,0233 g. In 100 ccm der Emulsion sind 0,0655 g Glycerin, entsprechend 0,6073 g Fett.

Gesamt-Fett: . . . . 6,2769 g

Gespaltenes Fett berechnet		
	aus den abgespaltenen Fettsäuren:	1,2837 g = 20,45 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin:	0,6073 g = 9,67 %

3. Wie unter 1., jedoch 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 0,27 mg äquiv., entsprechend 0,0764 g Fett.

b) Gesamte Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 20,431 mg äquiv., entsprechend 5,7819 g Fett.

c) Kein Glycerin.

4. Wie bei 2., jedoch 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 1,30 mg äquiv., entsprechend 0,3679 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 23,715 mg äquiv., entsprechend 6,7113 g Fett.

c) Rest für Glycerinbestimmung vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, in je 5 ccm Glycerin bestimmt. Gewicht des AgJ-Niederschlages:

α) 0,0589 g, β) 0,0590 g. In 100 ccm der Emulsion sind 0,1540 g Glycerin, entsprechend 1,4380 g Fett.

Gesamt-Fett: . . . . 6,2769 g

Gespaltenes Fett berechnet		
	aus den abgespaltenen Fettsäuren:	0,3679 g = 5,86 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin:	1,4380 g = 22,9 %

14. Versuch.

Emulsion: 20 g Oleum oliv., 25 g Gummi arabicum, 500 ccm dest. Wasser.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 11,2694 mg äquiv., entsprechend 3,3131 g Fett.

Magensaft aus dem Mageninhalt eines Hundes ausgepreßt, der 1 Stunde nach der Fütterung mit 2 cg Apomorphin zum Erbrechen gebracht wurde: Gesamtacidität 60, freie Salzsäure 48, Milchsäure keine. Eiweißverdauung: 3 mm in 24 Stunden (Mett).

1. 100 ccm Emulsion + 100 ccm dest. Wasser unter Zusatz von Toluol 24 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 11,863 mg äquiv., entsprechend 3,4877 g Fett.

c) Rest für Glycerinbestimmung vorbehandelt, auf 50 ccm eingedampft, in je 5 ccm Glycerin bestimmt: AgJ-Niederschlag bildete sich keiner.

2. 100 ccm Emulsion + 100 ccm Magensaft unter Zusatz von Toluol 24 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 1,3048 mg äquiv., entsprechend 0,3836 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 11,4789 mg äquiv., entsprechend 3,3748 g Fett.

c) Rest für Glycerinbestimmung vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, in je 5 ccm Glycerin bestimmt. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages:

α) 0,0204 g, β) 0,0192 g, davon sind in 100 ccm der Emulsion 0,0421 g Glycerin, entsprechend 0,4045 g Fett.

Gesamt-Fett: . . . . 3,3131 g

Gespaltenes Fett berechnet		
	aus den abgespaltenen Fettsäuren:	0,3836 g = 11,57 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin:	0,4045 g = 12,21 %

3. Wie bei 1., jedoch 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 11,3045 mg äquiv., entsprechend 3,3235 g Fett.

c) Kein Glycerin.

4. Wie bei 2., jedoch 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 2,2609 mg äquiv., entsprechend 0,6647 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion bezogen: 12,2875 mg äquiv., entsprechend 3,6125 g Fett.

c) Rest für Glycerinbestimmung vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, hiervon in je 5 ccm Glycerinbestimmung. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages:

α) 0,0327 g, β) 0,0328 g, und hiervon in 100 ccm der Emulsion sind 0,0851 g Glycerin, entsprechend 0,8177 g Fett.

Gesamt-Fett: . . . . 3,3131 g

Gespaltenes Fett berechnet		
	aus den abgespaltenen Fettsäuren:	0,6647 g = 20,06 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin:	0,8177 g = 24,68 %

Das Gesamtergebnis der Versuche wird durch Tabelle I veranschaulicht.

Bei den mit Eidotteremulsion vorgenommenen Versuchen fällt zunächst folgendes auf: Da die bei der Bestimmung der gesamten Fettsäuren erhaltenen Daten, resp. die hierauf berechneten Werte für Fett innerhalb einer Versuchsreihe immer auf 100 ccm derselben Emulsion bezogen sind, mußten sie, wenn außer einer glatten Fettspaltung keine anderen Veränderungen stattfinden, dieselben bleiben, ob nun eine Spaltung der Fette stattgefunden hat oder nicht; auffallenderweise zeigen nun die erhaltenen Werte innerhalb einer Versuchsreihe oft große Differenzen, namentlich in den Versuchen, wo unter dem Einflusse des verdauenden Magensaftes eine Fettspaltung stattgefunden hat, z. B. im 2. Versuche, wo der Gesamtfettwert

während des 48stündigen Versuches von den ursprünglichen 6,34 g auf 7,19 g angewachsen ist; im 6. Versuche, wo er in 24 Stunden von 4,83 g auf 3,72 g, in 48 Stunden auf 3,49 g; im 7. Versuche von 6,26 g auf 3,88 g resp. 2,89 g gesunken ist. Demgegenüber stimmen im 1. Versuche, wo der achylische Mageninhalt gar keine Fettspaltung hervorrief, die Werte vollkommen und bei den Versuchen mit Magensaft vom Hunde, wo die Fettspaltung nur in geringerem Maße stattfand, im großen ganzen ebenfalls überein. Aber nicht nur in den Versuchen mit aktivem Enzym, sondern auch bei den Kontrollversuchen zeigen sich solche Veränderungen. Es ist von einigem Interesse, daß sie dort am auffälligsten sind, wo, wie es scheint, das Ei nicht frisch war, da es schon vorher mit Petroläther ausschüttelbare freie Fettsäuren enthielt und die Fettsäureabspaltung bei Abwesenheit von aktivem fettspaltenden Enzym während des Stehens im Thermostaten ihren Fortgang nahm (6, 7, 8, 10, 11). Wenn nun auch zugegeben werden soll, daß namentlich die größeren Schwankungen von Versuchsfehlern herrühren könnten, so unterliegt es keinem Zweifel, daß sie zum Teil dem eigentümlichen Verhalten der Fettsäuren zuzuschreiben sind. Wurde doch mit derselben Methodik in den Versuchen mit Ölemulsion die Menge der gesamten Fettsäuren immer unverändert gefunden! Wovon die Abnahme ihrer Gesamtmenge in einigen Versuchen herrührt, darauf geben meine Versuche keine Antwort; vielleicht entweicht ein Teil der Fettsäuren in Form von flüchtigen Substanzen, oder erleiden sie eine weitere Zersetzung; auch eine Bindung ist nicht unmöglich.

Noch auffallender ist das Schwanken in der Menge der abgespaltenen, durch Petroläther ausschüttelbaren Fettsäuren. Da die Menge des Enzyms innerhalb einer Versuchsreihe jedesmal dieselbe war, hätten — bei der bekannten Proportionalität zwischen Menge und Wirkungsdauer des Enzyms einerseits, der Menge der Produkte der Enzymwirkung anderseits — auch die Menge der in 48 Stunden abgespaltenen Fettsäuren eine größere sein sollen als nach 24 Stunden. Eine solche Zunahme findet sich aber nur in den Versuchen 5, 8, 12, wo aus der Menge der abgespaltenen Fettsäuren berechnet nach 24 resp. 48 Stunden von dem ursprünglich vorhanden gewesenen Fett zersetzt gefunden waren 27,8 bis 36,6%, 4,1 bis 21,1%, 3,64

Tabelle

Nummer	Versuch	100 ccm Emulsion: Gesamt-Fettsäure mg äquiv.	100 ccm Emulsion: Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet g	100 ccm Emulsion: Freie Fettsäure mg äquiv.	100 ccm Emulsion: Fett aus der freien Fettsäure berechnet g	Verdauungssaft: Gesamtacidität	Verdauungssaft: Freie Salzsäure	Verdauungssaft: Milchsäure	Zur Probe genommen: Emulsion ccm	Zur Probe genommen: Verdauungssaft ccm	24stündige Verdauung mit inaktivem Saft: Gesamt-Fettsäure mg äquiv.	24stündige Verdauung mit inaktivem Saft: Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet g	24stündige Verdauung mit inaktivem Saft: Freie Fettsäure mg äquiv.	24stündige Verdauung mit inaktivem Saft: Fett aus der freien Fettsäure berechnet g	24stündige Verdauung mit inaktivem Saft: Glycerin g	24stündige Verdauung mit inaktivem Saft: Fett aus Glycerin berechnet g
1	mit menschlichem Magensaft und Eigelbemulsion	35,50	10,05	0	0	0	0	0	100	50	36,0	10,20	0	0	0	0
2		22,50	6,37	0	0	55	47	0	100	40	22,60	6,40	0	0	0	0
3		22,50	6,37	0	0	—	—	—	100	30	22,60	6,40	0	0	0	0
4		22,50	6,37	0	0	47	36	0	100	40	22,60	6,40	0	0	0	0
5		40,80	11,5	2,40	0,68	98,7	—	—	120	50	40,0	11,3	3,31	0,94	0	0
6		17,08	4,83	0,81	0,23	102	85	0	100	20	12,82	3,63	0,65	0,18	0	0
7		22,12	6,26	0,60	0,17	87	72	0	100	50	20,83	5,89	1,62	0,46	0	0
8		15,41	4,36	0,81	0,23	46	32	0	100	50	15,55	4,40	0,62	0,18	0	0
9	mit Hundemagensaft und Eigelbemulsion	23,52	6,66	0,81	0,23	—	—	—	200	15	20,87	5,91	0,85	0,24	0	0
10		22,18	6,28	0,27	0,07	39	0	+	100	40	25,65	7,26	0,27	0,07	0	0
11		22,17	6,28	0,54	0,15	20	0	0	100	40	24,66	6,98	0,65	0,18	0	0
12		17,50	4,85	0,20	0,06	29	22	0	100	25	16,43	4,65	0	0	0	0
13	Menschlicher Magensaft und Ölemulsion	13,28	3,91	0	0	56	42	0	100	50	13,35	3,92	0	0	0	0
14	Hundemagensaft und Ölemulsion	11,26	3,31	0	0	60	48	0	100	100	11,86	3,49	0	0	0	0

bis 5,63%. In den übrigen Versuchen, wo eine Fettspaltung stattfand, wurden nach 48 Stunden geringere Werte erhalten als nach 24 Stunden, also in geradem Gegensatz zu jeder Gesetzmäßigkeit.

Es möge noch bemerkt werden, daß hier von einem analytischen Fehler keine Rede sein kann, weil immer parallele Analysen vorgenommen wurden und die mitgeteilten Werte das Mittel aus zwei gut übereinstimmenden Analysen sind.

Schon aus dieser Tatsache folgt, daß die im Laufe der Fettverdauung nachweisbaren Mengen freier Fettsäure in den mit Eidotter vorgenommenen Versuchen keinen verläßlichen Maßstab des Grades der Fettverdauung liefern können. Sicher geht dies aus der Betrachtung des Verhaltens des zweiten Produktes der Fettspaltung, des abgespaltenen Glycerins, hervor: in allen Versuchen, in denen auf Grund des positiven Befundes an freiem Glycerin eine Fettspaltung überhaupt nachweisbar ist, entsprechen die Mengen des Glycerins einer fortschreitenden Enzymwirkung; nach 48 Stunden ist die aus dem Glycerin

24stündige Verdauung mit aktivem Saft						48stündige Verdauung mit inaktivem Saft						48stündige Verdauung mit aktivem Saft						Es wurde gespalten nach 24 St.		Es wurde gespalten nach 48 St.	
Gesamt-Fettsäure	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet	Freie Fettsäure	Fett aus der freien Fettsäure berechnet	Glycerin	Fett aus Glycerin berechnet	Gesamt-Fettsäure	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet	Freie Fettsäure	Fett aus der freien Fettsäure berechnet	Glycerin	Fett aus Glycerin berechnet	Gesamt-Fettsäure	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet	Freie Fettsäure	Fett aus der freien Fettsäure berechnet	Glycerin	Fett nach Glycerin berechnet	aus Fettsäure berechnet	aus Glycerin berechnet	aus Fettsäure berechnet	aus Glycerin berechnet
mg äquiv.	g	mg äquiv.	g	g	g	mg äquiv.	g	mg äquiv.	g	g	g	mg äquiv.	g	mg äquiv.	g	g	g	%	%	%	%
35,0	9,90	0	0	minimal		—	—	—	—	—	—	34,13	9,66	0	0	minimal		0	0	0	0
22,40	6,34	4,73	1,34	0,1031	0,96	24,0	6,79	0	0	0	0	25,40	7,19	3,29	0,93	0,1970	1,83	21,0	15,0	14,6	28,7
22,50	6,37	3,25	0,92	0,0791	0,73	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14,4	11,5	—	—
22,40	6,34	5,60	1,58	0,0935	0,87	24,0	6,79	0	0	0	0	23,20	6,57	2,80	0,79	0,1327	1,23	24,8	13,6	12,4	19,3
—	—	11,13	3,15	0,1094	1,01	—	—	1,41	0,40	0	0	—	—	14,87	4,21	0,2050	1,90	27,8	8,8	36,6	16,5
13,15	3,72	1,30	0,36	0,0480	0,45	12,81	3,63	0,32	0,09	0	0	12,33	3,49	0,65	0,18	0,1596	1,48	7,5	9,3	3,7	30,6
13,74	3,89	2,70	0,77	0,0306	0,28	—	—	—	—	—	—	10,23	2,90	2,71	0,77	0,0682	0,63	12,3	4,5	12,3	10,0
18,25	5,16	0,62	0,18	0,0225	0,21	13,52	3,83	0,62	0,18	0	0	15,22	4,31	3,24	0,92	0,0705	0,65	4,1	4,8	21,1	14,9
21,58	6,11	1,70	0,68	0,0768	0,71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10,2	10,6	—	—
24,65	6,98	4,53	1,28	0,0655	0,61	20,43	5,78	0,27	0,07	0	0	23,71	6,71	1,30	0,37	0,1540	1,44	20,4	9,7	5,8	22,9
24,01	6,80	0,65	0,18	0,0398	0,37	25,31	7,16	0	0	0	0	24,01	6,80	0	0	0,1055	0,98	0	5,9	0	15,5
16,25	4,60	0,62	0,18	minimal		15,93	4,51	0	0	0	0	16,25	4,60	0,97	0,27	minimal		3,6	0	5,6	0
13,20	3,88	0,89	0,26	0,0235	0,23	13,06	3,84	0	0	0	0	12,89	3,79	2,26	0,66	0,0559	0,54	6,7	5,8	17,0	13,7
11,48	3,37	1,30	0,38	0,0421	0,40	11,30	3,32	0	0	0	0	12,28	3,61	2,26	0,66	0,0851	0,82	11,6	12,2	20,0	24,7

berechnete Menge des gespaltenen Fettes eine größere als nach 24 Stunden, und diese Zunahme der Fettspaltung ist auch in den Versuchen nachweisbar, in denen die Berechnung aus den abgespaltenen Fettsäuren geradezu eine Abnahme ergibt. Dieses regelmäßige quantitative Verhalten berechtigt uns an und für sich bereits *in allen Fällen, wo die aus dem Glycerin einerseits und den freien Fettsäuren anderseits berechnete Fettspaltung nicht übereintimmen, die Glycerinwerte als die zuverlässigen anzusehen.*

Nachdem in den meisten Fällen die aus den freien Fettsäuren berechnete Menge des gespaltenen Fettes eine geringere ist, als sich aus dem freien Glycerin berechnen läßt, dachte ich daran, daß vielleicht ein Teil der Fettsäuren oxydiert wird. Obzwar diese Voraussetzung wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat, so untersuchte ich in einigen Versuchen dennoch, ob etwa während der Fettverdauung CO_2 gebildet wird. Die Versuchsergebnisse teile ich hier nicht mit, weil es sich herausstellte, daß sich sowohl in den Kontroll- als auch in den Verdauungs-

gemischen innerhalb 24 Stunden schon meistens CO_2 entwickelt hatte, deren Menge aber nie mehr als einige Milligramme betrug.

Während die mit Eidotteremulsion ausgeführten Versuche infolge des oben geschilderten Verhaltens der Fettsäuren so unregelmäßige Ergebnisse aufweisen, erhielt ich in den mit Ölemulsionen ausgeführten Versuchen ein genaues Bild der in jedem Falle gesetzmäßig fortschreitenden Fettspaltung, ob ich menschlichen Magensaft oder Magensaft vom Hunde verwendete; ferner auch, ob der Grad der Fettspaltung aus dem Glycerin oder aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet wurde. Auch die Menge der gesamten Fettsäuren, die in den Versuchen mit Eidotteremulsion unregelmäßige Schwankungen aufwies, bleibt in den Versuchen mit Öl unverändert. Dies erklärt sich dadurch, daß in der Ölemulsion außer dem Öl keine anderen zersetzlichen Lipoide vorhanden sind, wie solche im Eidotter vorkommen.

Diese Versuche haben nicht nur methodisches Interesse, sondern liefern meines Erachtens auch einen Beweis dafür, daß Magenlipase mit dem Pankreassteapsin nicht identisch ist, was von manchen Autoren noch immer bestritten wird.

Wie steht nun heute die Frage des Fettspaltungsvermögens des Magens?

Während ich[1]) auf Grund meiner im Jahre 1906 veröffentlichten Untersuchungen über das Fettspaltungsvermögen des Magens mich mit Volhard[2]) und Stade[3]) dahin erklären mußte, daß die im Magen konstatierbare Fettspaltung der Wirkung eines durch die Magenschleimhaut ausgeschiedenen speziellen Enzyms zuzuschreiben ist, folgerte Aldor[4]) gerade aus der Unregelmäßigkeit im Verhalten der Fettsäuren, daß es sich bei der Fettspaltung im Magen nicht um eine Enzymwirkung handeln könne. Nach Boldyreff[5]) waren es die großen Mengen von Darmsaft, Pankreassaft und Galle, die aus dem Duodenum in dem Magen regurgitieren und dort eine Fett-

---

[1]) v. Pesthy, Arch. f. Verdauungskrankheiten 12, 1906.

[2]) Volhard, Münch. med. Wochenschr. 1900 und Zeitschr. f. klin. Med. 42, 1901.

[3]) Stade, Inaugural-Dissertation. Gießen 1902.

[4]) Aldor, Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 30.

[5]) Boldyreff, Arch. f. d. ges. Physiol. 121.

spaltung durch die angenommene Magenlipase vortäuschten. Auch Molnár[1]) hat diese regurgitierenden Säfte stets vorgefunden, und zwar, wie er besonders betont, im stärksten Grade bei Magenkrebs und bei Achylie, im geringsten Grade bei Hyperchlorhydrie und Ulcus. Hingegen schreibt Heinsheimer[2]) die im Magen stattfindende Fettspaltung ausdrücklich einer Magenlipase zu, und erhielt auch in Fällen von Magencarcinom und Achylie keine Fettspaltung. Er hält es für ausgeschlossen, daß die Fettspaltung durch den regurgitierten Darm- und Pankreassaft verursacht werde, denn reiner Magensaft, der durch eine Magenfistel erhalten wird, ja sogar der Saft des nach Pawlow angelegten kleinen Magens, wo doch die Kommunikation mit dem Darm ausgeschlossen ist, spalten Fett genau so wie ein auf gewöhnlichem Wege erhaltener Magensaft. Ich muß noch erwähnen, daß es Ibrahim und Kopec[3]) gelungen ist, aus der Magenwand von Säuglingen oder von Embryonen aus den letzten Monaten der Schwangerschaft mittels Glycerin und Wasser ein Extrakt zu bereiten, welches das Fett sehr gut spaltete. Ein fettspaltendes Extrakt erhielten sie auch aus dem Mageninhalt von Säuglingen und Embryonen.

Durch meine oben geschilderten Versuche glaube ich ein gewichtiges Argument nicht nur für die enzymatische Natur der Fettspaltung im Magen geliefert zu haben, sondern auch dafür, daß die Magenlipase mit dem fettspaltenden Enzym des Pankreas nicht identisch sein kann. Denn von einem unregelmäßigen Verlauf der Fettspaltung kann, wie wir oben sahen, nur insolange die Rede sein, als er aus dem Verhalten der abgespaltenen Fettsäuren beurteilt wird; diese zeigt hingegen einen regelmäßigen Verlauf, wie er bei anderen Enzymvorgängen beobachtet wird, sobald die Menge des anderen, nicht so veränderlichen und reaktionsfähigen Spaltungsproduktes, des Glycerins, als Basis der Berechnung genommen wird. Anderseits werden wir auch sehen, daß die Fettsäuren bei den Spaltungsversuchen mit Pankreassteapsin dasselbe unregelmäßige Verhalten zeigen, und dennoch wurde noch von niemandem in

---

[1]) Molnár, Zeitschr. f. klin. Med. 67.

[2]) Heinsheimer, Deutsche med. Wochenschr. 1906 und Arbeiten aus dem Pathologischen Institut zu Berlin. 1906.

[3]) Ibrahim und Kopec, Zeitschr. f. Biologie 53, 1910.

Zweifel gezogen, daß man es mit einem Enzymprozeß zu tun hat.

Was ferner die Rolle des regurgitierenden Darminhaltes, resp. der darin enthaltenen Enzyme bei der Fettspaltung im Magen anbelangt, will ich einerseits auf die Tatsache hinweisen, daß sowohl das Pankreas-, als auch das Darmsekret ihre Aktionsfähigkeit in einem saueren Mittel einbüßen, also eine im saueren Magen stattfindende Fettspaltung schon aus diesem Grunde nicht dem genannten Darmenzym zugeschrieben werden kann; — anderseits muß ich hervorheben, daß nach Molnárs Beobachtungen bei Magenkrebs und Achylie die Regurgitation in stärkstem Maße vorkommt, also gerade die Zustände, in denen sowohl bei meinen früheren und jetzigen Untersuchungen, als auch bei denen von Heinsheimer kein Fettspaltungsvermögen des Magensaftes nachzuweisen war. Für die Existenz einer Magenlipase sprechen schließlich noch die Versuche Volhards, ferner die von Ibrahim und Kopec, die aus der Magenschleimhaut des Menschen ein fettspaltendes Extrakt erhielten. Menschlicher Magensaft spaltet das Fett sowohl bei saurer als bei neutraler Reaktion; die geringere spaltende Wirkung des stark saueren Saftes des Hundemagens rührt von der destruierenden Wirkung der starken Säure auf die Emulsion her, die dann zur Folge hat, daß das Fett dem Verdauungssaft schwerer zugänglich wird.

3. Fettspaltung mit Pankreassteapsin.

Mit dem in der oben beschriebenen Weise hergestellten Pankreassaft nahm ich 4 Versuche vor, zwei mit Eidotter- und zwei mit Ölemulsion; in einem Versuche verwendete ich den Inhalt menschlicher Pankreascyste und Ölemulsion. Außer diesem letzteren Versuche sei von den ersten 4 Versuchen hier als Beispiel bloß einer ausführlich mitgeteilt.

4. Versuch mit Ölemulsion.

Emulsion: 20 g Oleum olivarum, 25 g Gummi arabicum mit 37,5 ccm Wasser gut verrieben, auf 500 ccm verdünnt.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 13,8335 mg äquiv., entsprechend 4,0805 g Fett.

Pankreassaft in beschriebener Weise zubereitet, verdaut Eiweiß, spaltet Fett, diastatische Wirkung positiv.

1. 100 ccm Emulsion + 52 ccm dest. Wasser mit Toluol-Zusatz 24 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 13,4916 mg äquiv., entsprechend 3,9800 g Fett.

c) Rest nach entsprechender Vorbehandlung auf 50 ccm eingedampft. Bildet bei der Glycerinbestimmung keinen AgJ-Niederschlag.

2. 100 ccm Emulsion + 50 ccm Pankreassaft + 2 ccm 2 n-$CaCl_2$-Lösung mit Toluol, Zusatz 24 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure, auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 8,0651 mg äquiv., entsprechend 2,3792 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 14,0631 mg äquiv., entsprechend 4,1485 g Fett.

c) Rest entsprechend vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, hiervon in je 5 ccm Glycerinbestimmung. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages:

α) 0,0628 g, β) 0,0656 g, woraus in 100 ccm der Emulsion sind 0,1568 g Glycerin, entsprechend 1,5065 g Fett.

Gesamt-Fett . . . . 4,0805 g

Gespaltenes Fett	aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet	2,3792 g = 57,35 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin berechnet	1,5067 g = 36,31 %

3. Wie bei 1., jedoch 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 13,7736 mg äquiv., entsprechend 4,0632 g Fett.

c) Rest entsprechend vorbehandelt, auf 50 ccm eingedampft, bei der Glycerinbestimmung kein AgJ-Niederschlag.

4. Wie bei 2., jedoch 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 10,0189 mg äquiv., entsprechend 2,9156 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 13,9468 mg äquiv., entsprechend 4,1143 g Fett.

c) Rest entsprechend vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, hiervon in je 5 ccm Glycerinbestimmung. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages:

α) 0,1038 g, β) 0,1034 g, wovon in 100 ccm der Emulsion sind: 0,2531 g Glycerin, entsprechend 2,4320 g Fett.

Gesamt-Fett . . . . 4,0805 g

Gespaltenes Fett	aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet	2,9156 g = 70.86 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin berechnet	2,4320 g = 59,08 %

5. Versuch mit Pankreascysteninhalt.

Emulsion aus Oleum olivarum auf die beschriebene Weise bereitet.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 12,052 mg äquiv., entsprechend 3,5553 g Fett.

Die Pankreascyste hatte ca. 3 Liter Flüssigkeit enthalten, der sich bei der operativen Entleerung Blut beimischte.

Ein Gemisch von Cysteninhalt und Stärkelösung zeigte nach 6 Stunden bereits eine starke Fehling-Reaktion. In Mettschen Eiweißröhrchen wurde nach 20 Stunden eine Verdauung von 2 mm konstatiert.

1. 100 ccm Emulsion + 100 ccm Cysteninhalt + 2 ccm 2 n-$CaCl_2$-Lösung unter Toluolzusatz 24 Stunden in Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 5,1315 mg äquiv., entsprechend 1,5138 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 15,5545 mg äquiv., entsprechend 4,5885 g Fett.

c) Rest entsprechend vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, hiervon in je 5 ccm Glycerinbestimmung. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages:

α) 0,0424 g, β) 0,0408 g, woraus in 100 ccm der Emulsion sind: 0,1017 g Glycerin, entsprechend 0,9772 g Fett.

Gesamt-Fett:		3,5553 g
Gespaltenes Fett	aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet	1,5838 g = 33,0 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin berechnet	0,9772 g = 21,3 %

2. Wie bei 1., jedoch 48 Stunden im Thermostaten belassen.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 4,7422 mg äquiv., entsprechend 1,3989 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: 15,9339 mg äquiv., entsprechend 4,7005 g Fett.

c) Rest entsprechend vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, hiervon in je 5 ccm Glycerinbestimmung. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages:

α) 0,0653 g, β) 0,0688 g, wovon in 100 ccm der Emulsion sind: 0,1638 g Glycerin, entsprechend 1,5739 g Fett.

Gesamt-Fett:		3,5553 g.
Gespaltenes Fett	aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet:	1,3989 g = 29,8 %
	aus dem abgespaltenen Glycerin berechnet:	1,5739 g = 33,9 %

Das Ergebnis der Versuche ist in der Tabelle II enthalten.

Mit Pankreaspreßsaft ist die Fettspaltung im allgemeinen größer als mit Magensaft. Aber auch hier zeigt sich bei der

Eidotteremulsion dieselbe Unregelmäßigkeit in dem Verhalten der abgespaltenen wie auch der Gesamtfettsäuren, wie beim Magensaft. In dem einen Versuche verändert sich der Fettgehalt aus den Gesamtfettsäuren berechnet von 5,21 g im Verlaufe der Verdauung auf 3,57, 3,80, 4,44, 6,44 g; im zweiten Falle von 3,94 g auf 3,98, 3,82, 5,18 4,98 g. Aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet wurden in einem Eidotteremulsions-Versuche nach 24 Stunden 30,7 %, nach 48 Stunden 29,1 % des Fettes gespalten, in dem 2. Versuche nach 24 Stunden 47,4 %, nach 48 Stunden 64,2 %, ganz ähnlich wie in den mit Magensaft angestellten Versuchen. Hingegen entsprechen die gefundenen Glycerinmengen in jedem Falle einem gesetzmäßigen Fortschritt der enzymatischen Fettspaltung.

In den Versuchen mit Ölemulsion bleibt die Gesamtmenge der Fettsäuren innerhalb eines Versuches unverändert und entsprechen die abgespaltenen Fettsäuren und Glycerin einer gesetzmäßigen Progression.

Um so auffallender sind die Ergebnisse mit Pankreascysteninhalt, die mit Ölemulsion dieselbe Unregelmäßigkeit zeigen wie mit Eidotteremulsion. Das Gesamtfett verändert sich von 3,55 g auf 4,58 und 4,70 g, und aus der Menge der abgespaltenen Fettsäuren berechnet wurden in 24 Stunden 32,9 %, in 48 Stunden aber nur 29,7 % des Fettes gespalten, während sie aus dem abgespaltenen Glycerin berechnet 21,2 und 33,9 % betragen. Ich finde die Erklärung dieser Unregelmäßigkeit darin, daß der Cysteninhalt stark mit Blut vermischt war, dessen Eiweiß- und Lipoid-Gehalt dieselben Komplikationen verursacht wie die Bestandteile des Eidotters; wozu vielleicht noch ein nachweisbarer Gehalt der Cystenflüssigkeit an Trypsin einiges beitrug.

II. Produkte der Fettspaltung im Verdauungskanal.

Ich verfüge über je einen mit einer Emulsion aus Eidotter bzw. aus Öl an Hunden ausgeführten Versuch. Eine genau abgemessene Menge der Emulsion wurde durch die Sonde in den Magen eingegossen, das Tier 2 Stunden darauf mit Chloroform getötet, der Mageninhalt vom Darminhalt getrennt und darin, wie bei den in vitro angestellten Versuchen, die quantitative Bestimmung der Fettsäuren und Glycerin vorgenommen.

Tabelle

Nummer	Versuch	100 ccm Emulsion				Verdauungssaft		Zur Probe genommen		24stündige Verdauung mit inaktivem Saft					
		Gesamt-Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet g	Freie Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der freien Fettsäure berechnet g	Eiweißverdauung	Diastatische Fermentwirkung	Emulsion ccm	Verdauungssaft ccm	Gesamt-Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet g	Freie Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der freien Fettsäure berechnet g	Glycerin g	Fett aus Glycerin berechnet g
1	Rinderpankreassaft und Eigelbemulsion	18,42	5,21	0,84	0,23	+	+	100	50	12,63	3,57	0,66	0,20	0	0
2	Rinderpankreassaft und Eigelbemulsion	13,92	3,94	0,28	0,08	+	+	100	50	14,10	3,99	2,25	0,64	0	0
3	Rinderpankreassaft und Ölemulsion	13,83	3,51	0	0	+	+	100	50	13,49	3,98	0	0	0	0
4	Rinderpankreassaft und Ölemulsion	11,93	3,51	0	0	+	+	100	50	12,48	3,67	0	0	0	0
5	Pankreascysteninhalt und Ölemulsion	12,05	3,56	0	0	+	+	100	100	—	—	—	—	—	—

1. Versuch.

Einem Hunde, den ich 2 Tage lang hungern ließ, goß ich mittels des Magenschlauches 180 ccm aus Eidotter bereiteter Emulsion in den Magen, die dem durchschnittlichen Fettgehalt des Eidotters (23%) entsprechend 41,4 g Fett enthielt.

Nach $2^1/_2$ Stunden wurde das Tier mit Chloroform getötet und der Magen an beiden Ausgängen, und der Darm am Pylorus und etwas unterhalb des Coecums, wo noch keine Kotklumpen waren, abgebunden. Magen- und Darminhalt wurden getrennt verarbeitet.

1. Der Mageninhalt, 350 ccm, bildet eine gleichmäßige Emulsion, Geruch ein wenig säuerlich, reagiert sauer.

a) Freie Fettsäure in den 350 ccm der Emulsion 6,6325 mg äquiv., entsprechend 1,8770 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure in den 350 ccm der Emulsion 111,426 mg äquiv., entsprechend 31,533 g Fett;

c) Rest entsprechend vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, daraus zuerst in 5 ccm, dann in 10 ccm Glycerin bestimmt. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages: α) 0,0102 g, β) 0,0194 g, es sind also in 350 ccm der Emulsion 0,2010 Glycerin, entsprechend 1,8638 g Fett.

2. Darminhalt 80 ccm, von breiiger Konsistenz, von Galle gelblichbraun gefärbt, mit Eiweißklumpen vermischt.

a) Freie Fettsäure in 80 ccm des Darminhaltes 5,3363 mg äquiv., entsprechend 1,5200 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure in 80 ccm des Darminhalts 14,402 mg äquiv., entsprechend 4,0755 g Fett.

3. Rest entsprechend vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, davon in je 10 ccm Glycerin bestimmt. Gewicht des gebildeten AgJ-Nieder-

II.

24stündige Verdauung mit aktivem Saft						48stündige Verdauung mit inaktivem Saft						48stündige Verdauung mit aktivem Saft						Es wurde gespalten nach 24St.		Es wurde gespalten nach 48St.	
Gesamt-Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet g	Freie Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der freien Fettsäure berechnet g	Glycerin g	Fett aus Glycerin berechnet g	Gesamt-Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet g	Freie Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der freien Fettsäure berechnet g	Glycerin g	Fett aus Glycerin berechnet g	Gesamt-Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der Gesamt-Fettsäure berechnet g	Freie Fettsäure mg äquiv.	Fett aus der freien Fettsäure berechnet g	Glycerin g	Fett aus Glycerin berechnet g	aus Fettsäure berechnet %	aus Glycerin berechnet %	aus Fettsäure berechnet %	aus Glycerin berechnet %
13,43	3,80	5,70	1,60	0,1475	1,37	15,71	4,45	0,66	0,20	0	0	22,76	6,44	5,36	1,52	0,2182	2,02	30,7	26,2	29,1	38,8
13,51	3,82	6,60	1,87	0,1091	1,01	18,32	5,19	2,94	0,83	0	0	17,62	4,99	8,97	2,53	0,1704	1,58	47,4	25,7	64,2	40,1
14,06	4,15	8,06	2,38	0,1568	1,51	13,77	4,06	0	0	0	0	13,94	4,11	10,01	2,91	0,2531	2,43	57,3	36,3	70,9	59,1
12,25	3,60	3,62	1,06	0,1171	1,13	11,81	3,46	0	0	0	0	12,30	3,61	5,67	1,67	0,1523	1,46	27,8	32,1	46,1	41,4
15,55	4,59	5,13	1,51	0,1017	0,98	—	—	—	—	—	—	15,93	4,70	4,74	1,40	0,1638	1,57	33,0	21,3	29,8	33,9

schlages: α) 0,0378 g, β) 0,0395 g; daraus sind in 80 ccm des Darminhalts 0,0605 g Glycerin, entsprechend 0,5611 g Fett.

In das Tier wurden eingeführt insgesamt . .	41,4	g Fett
Im Magen fanden sich	31,533	„ „
Im Darm „ „	4,075	„ „
Verschwunden sind	5,892	„ „

2. Versuch.

Dieser Versuch wurde mit Ölemulsion ausgeführt. Die Emulsion wurde in der beschriebenen Weise aus Oleum olivarum bereitet.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm der Emulsion berechnet: keine.

b) Gesamt- „ „ 100 „ „ „ „ 13,8335 mg äquiv., entsprechend 4,0670 g Fett.

Der Hund erhielt nach zweitägigem Fasten 400 ccm von dieser Emulsion. Nach 2 Stunden wurde er getötet und der Magen- und Darminhalt gesondert aufgefangen.

1. Im Magen waren 42 ccm einer dicken Flüssigkeit, bestehend aus der augenscheinlich destruierten Emulsion mit viel Öltropfen auf der Oberfläche, beigemengt fanden sich viele Haare. Der Inhalt hat einen stark saueren Geruch und saure Reaktion.

a) Freie Fettsäure ist im Mageninhalt nur minimal enthalten.

b) Gesamt-Fettsäure, auf 42 ccm des Mageninhalts berechnet: 5,7623 mg äquiv., entsprechend 1,6941 g Fett;

c) Rest wurde entsprechend vorbehandelt, auf 25 g eingedampft und in je 10 ccm Glycerin bestimmt. Es bildete sich kein AgJ-Niederschlag.

2. Im Darm befanden sich 100 ccm breiig-gelblicher Inhalt.

a) Freie Fettsäure auf 100 ccm des Darminhalts berechnet: 4,9270 mg äquiv., entsprechend 1,4485 g Fett.

b) Gesamt-Fettsäure auf 100 ccm des Darminhalts berechnet: 12,1280 mg äquiv., entsprechend 3,5656 g Fett;

c) Rest wurde entsprechend vorbehandelt, auf 25 ccm eingedampft, daraus in je 5 ccm Glycerin bestimmt. Gewicht des gebildeten AgJ-Niederschlages: α) 0,0864 g, β) 0,0872 g, wovon auf 100 ccm des Darminhalts berechnet sind: 0,2471 g Glycerin, entsprechend 2,3784 g Fett.

Das Tier erhielt im ganzen	16,2680 g Fett
Im Magen waren noch	5,7623 „ „
Im Darm „ „	3,5656 „ „
Verschwunden	6,9401 „ „

Dem Umstande, daß die Eigelbemulsion nach dem zweistündigen Verweilen im Magen erhalten blieb, die Ölemulsion aber augenscheinlich zerstört war, schreibe ich dem recht interessanten Befund zu, daß bei der Eigelbemulsion eine Fettspaltung deutlich nachzuweisen war, bei der Ölemulsion jedoch gar nicht. Dies ist auch ohne weiteres verständlich, wenn wir bedenken, daß Fette nur in gut emulgiertem Zustande den fettspaltenden Enzymen zugänglich sind; ist es doch gerade die Galle, die durch ihre emulgierende Wirkung eine große Rolle bei der Fettverdauung spielt. Auffallend ist, daß man in dem Versuche mit Eidotteremulsion für die Menge der gespaltenen Fette aus den abgespaltenen Fettsäuren und dem Glycerin die gleichen Werte erhält, nämlich 1,87 g und 1,86 g.

Der Darminhalt ergab in beiden Versuchen einander vollkommen entgegengesetzte Resultate. Während im Versuche mit der Eidotteremulsion aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet 1,51 g Fett, aus dem Glycerin berechnet 0,56 g Fett gespalten wurden, wurden in dem Versuche mit der Ölemulsion aus den abgespaltenen Fettsäuren berechnet 1,45 g, aus dem Glycerin berechnet 2,38 g Fett gespalten. Natürlicherweise komplizieren sich hier die Verhältnisse mit der fortschreitenden Verdauung einerseits und Resorption andererseits derart, daß ich mich vorderhand, ohne weitere Versuche anzustellen, in keinerlei Erklärung obiger Ergebnisse einlassen möchte.

Aus den sonst widersprechenden Ergebnissen dieser beiden Versuche geht aber sicher hervor, daß **die beiden Spaltungsprodukte (Glycerin und Fettsäuren) des verdauten Fettes im Darm nicht in proportionaler Menge vorhanden sind; woraus mit großer Wahrscheinlichkeit geschlossen werden kann, daß ein ähnliches Mißverhältnis auch während der Resorption besteht, sofern es nicht durch die verschiedenen Resorptionsgeschwindigkeiten der**

beiden Spaltungsprodukte ausgeglichen wird. Meine Befunde sprechen dafür, daß wir vom zeitlichen Verlauf der Fettverdauung und der Fettresorption nur dann ein klares Bild erhalten werden, wenn das Verhalten beider Produkte der Fettspaltung, des Glycerins und der Fettsäuren, untersucht wird. Solche Untersuchungen wurden bisher nicht ausgeführt, sind aber dringend erwünscht.

Die Hauptergebnisse meiner Untersuchungen kann ich in folgende Punkte zusammenfassen:

1. Über den Verlauf der Fettverdauung können wir durch die Bestimmung des freien Glycerins zu jeder Zeit verläßliche Daten erhalten, und zwar auch dann, wenn die Bestimmung der freien Fettsäuren fehlerhafte oder unsichere Werte ergibt.

2. Die freien Fettsäuren bieten nur dann ein klares Bild, wenn es sich um einen reinen Fettverdauungsprozeß handelt, der also nicht durch andere Prozesse kompliziert ist.

3. Dafür, daß die im Magen stattfindende Fettspaltung auf einer Enzymwirkung beruht, und zwar einem speziellen, von der Magenschleimhaut abgesonderten Enzym zuzuschreiben ist, habe ich folgende Anhaltspunkte gewonnen:

a) Die Menge des abgespaltenen Glycerins liefert ein genaues Maß der Fettspaltung; daß die Menge der gleichzeitig abgespaltenen Fettsäuren mit fortschreitender Fettspaltung oft keine gleichmäßige Zunahme, sondern ein ganz regelloses Verhalten aufweist, spricht nicht gegen die enzymatische Natur der Fettspaltung, denn es können hier vielfach auch andere Momente eingreifen, die die Menge der Fettsäuren beeinflussen.

b) Die im Magen nachgewiesene Fettspaltung ist nicht Darmenzymen zuzuschreiben, die etwa gegen den Magen regurgitieren, da ja diese ihre Aktivität im sauren Mageninhalt verlieren; zudem erhielt ich eben in Fällen von Achylia gastrica und Carcinom, wo erfahrungsgemäß am ehesten eine Regurgitation von Darminhalt gegen den Magen stattfindet, keinerlei Fettspaltung im Magen.

4. Im Darmtrakt sind beide Komponenten der Fette, Glycerin sowohl wie auch Fettsäuren, nachweisbar, aber nicht in der Proportion, die der chemischen Formel entsprechen würde.

Diese Untersuchungen wurden auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. Tangl ausgeführt.

Über die Löslichkeit der Pankreaslipase.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest. Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Unter den Enzymreaktionen des Organismus ist die scheinbar einfache Fettspaltung im Grunde genommen doch sehr kompliziert. Es wurde wiederholt versucht, die Kinetik des Vorganges zu bestimmen, indem man eine Reaktionsgleichung aufstellte. Obwohl es manchen gelang, unter andern besonders Arrhenius[1]), den Vorgang durch genaue mathematische Formeln auszudrücken, blieb es doch bei der Empirie, weil aus ihnen infolge der Kompliziertheit der Reaktion keine theoretischen Schlüsse zu ziehen waren. Meine Arbeit soll einen Beitrag zur Kenntnis eines der Faktoren dieses komplizierten chemischen Systems liefern.

Für die Enzymreaktionen muß vor allem betont werden, daß die Fermente Kolloide sind[2]). Für die Untersuchungen über Fettspaltung ist das von grundsätzlicher Bedeutung. Die Kolloide haben nämlich einen sehr großen Einfluß auf die Emulgierung der Fette. Werden daher die Untersuchungen nicht mit Fettemulsionen angestellt, so ist die Fettspaltung sehr gering, und der Erfolg hängt von Zufälligkeiten ab, vor allem davon, wie groß die Berührungsflächen sind. Die Untersuchungen müssen daher grundsätzlich mit Emulsionen an-

---

[1]) Siehe Herzog, Physikalische Chemie der Fermente und Fermentwirkungen. Sonderkapitel. In Oppenheimers Fermente, III. Auflage. S. 270.

[2]) Oppenheimer, Fermente, III. Auflage, S. 28 (Allg. Teil).

gestellt werden, nachdem in heterogenen Systemen die Reaktionsgeschwindigkeit von der Oberfläche abhängt. Die Untersuchungen werden durch die Unbeständigkeit der Emulsionen in hohem Grade gestört; quantitatives Arbeiten wird dadurch jedenfalls sehr erschwert.

Um diese Schwierigkeiten zu vermeiden, stellten viele Forscher ihre Untersuchungen in der Weise an, daß sie nicht an Fetten, sondern an in Wasser löslichen Estern die „Lipasewirkung" studierten. Diese Art von Untersuchungen konnte die Lösung der Frage der Fettspaltung nicht sehr fördern, wenn sie auch für die Pharmakologie von großer Bedeutung sind. Solche Lipasewirkung hat z. B. das Blut, aber emulgiertes Fett hydrolysiert es nicht, wie von mehreren Untersuchern nachgewiesen ist[1]). Es bleibt überhaupt fraglich, ob dieselben Enzyme, die die Ester spalten, auch auf Fette dieselbe Wirkung ausüben. Es dürfte daher Oppenheimers Standpunkt der richtige sein, der diese Enzyme für sich als Esterasen behandelt.

Die zweite Schwierigkeit bei den Untersuchungen ist, daß auch dieselbe Darstellungsweise der Lipase ungleichartige Produkte liefert. Das erklärt Connstein[1]) damit, daß wir bei der Maceration keine Lösungen, sondern mehr oder weniger grobe Suspensionen erhalten.

Meine Untersuchungen hatten den Zweck, die strittige Frage der Löslichkeit der Pankreaslipase aufzuklären.

Es ist von mehreren Autoren (Connstein, Ergeb. d. Physiol. 3) nachgewiesen, daß die Lipase in Wasser, in wässerigen Sodalösungen und in Glycerin unlöslich ist. Allerdings wird auch behauptet, daß die Lipase in diesen Medien, besonders in Glycerin, löslich ist. Als Beweis dafür, daß die Lipase gelöst ist, wurde mit angeführt[2]), daß die Extrakte durch Filterpapier gingen. Daß kann aber als Beweis nicht angenommen werden, denn Emulsionen und feine Suspensionen gehen auch durch Papierfilter. Nach Connstein[1]) ist die Lipase in organischen Lösungsmitteln unlöslich. Fränkel[3]) gibt aber an, daß sie in ätherischen Fettlösungen löslich wäre.

---

[1]) Connstein, Über fermentative Fettspaltung. Erg. d. Physiol. 3.

[2]) Engel, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 51, 1905.

[3]) Fränkel, Deskriptive Biochemie, S. 478.

Fränkels Angaben kann ich nach meinen Untersuchungen nicht bestätigen. Um die Löslichkeitsverhältnisse der Lipase in ätherischen Fettlösungen zu prüfen, habe ich folgende Versuche angestellt. Ich habe aufsteigend verschiedene Mengen säurefreien Olivenöls in Äther aufgelöst, und mittels aus Rinderpankreas hergestelltem Preßsaft geschüttelt. Am zweckmäßigsten erschien es, mit durch Buchnerpresse gewonnenem Preßsaft des Pankreas zu arbeiten. Den Preßsaft stellte ich in derselben Weise dar, wie es St. v. Pesthy in seiner vorstehenden Arbeit (S. 149) beschreibt. Man kann in dieser Weise ziemlich schnell ein sehr wirkungsvolles Material gewinnen. In diesen Preßprodukten — ebenso wie in Macerationen — ist naturgemäß außer der Lipase auch Trypsin und Diastase enthalten. Die Lipase von diesen zu trennen, ist bisher nicht gelungen. Der Äther wurde bei 30 bis 35° C verdampft, das rückständige Öl emulgierte ich mit Gummi arabicum. Ein Teil wurde nach Ansäuerung mit Salzsäure mit 50 ccm Petroläther ausgeschüttelt, 25 ccm abpipettiert und mit $^{n}/_{10}$-NaOH titriert (Kontrollversuch); dasselbe geschah mit dem anderen Teil, nachdem er 24 Stunden im Thermostaten bei 39 bis 40° C gestanden. Die Titrationswerte waren in beiden Versuchsreihen die gleichen. In den meisten Fällen verbrauchte ich 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO, höchstens ging es bis 0,4 ccm. Der Unterschied zwischen den Thermostat- und den Kontrollversuchen betrug nur 0,1 ccm. Das beweist, daß keine Fettspaltung stattfand, folglich war keine Lipase in der ätherischen Lösung. Selbstverständlich wurde mit demselben Preßsafte auch mit einer Fettemulsion eine Kontrolluntersuchung gemacht, die Fettspaltung ergab.

Eine weitere Versuchsreihe wurde ausgeführt zur Bestimmung, ob Lipase in Fetten und Fettsäuren löslich sei. Es wurde der Preßsaft des Pankreas 5 bis 6 Stunden lang im Schüttelapparat mit Olivenöl, Sesamöl und Ölsäure geschüttelt. Die Masse wurde nachher so lange zentrifugiert, bis das Öl eine durchsichtige gelbe Schicht bildete. Dies gelingt bei 1 bis $1^{1}/_{2}$stündigem Zentrifugieren sehr gut. Nachdem das Öl abfiltriert war, emulgierte ich es mit wenig Wasser, oder weil diese Emulsionen nur kurze Zeit bestehen bleiben, mit schwacher Lauge. Dann ließ ich 24 Stunden lang die Emulsionen im Thermostaten stehen, konnte aber nachher keine Fettspaltung

nachweisen. Im Versuch mit Ölsäure wurde ein Teil des Filtrates mit Glycerin, der andere mit Öl versetzt. Der Glycerinversuch sollte entscheiden, ob unter dem Einflusse der eventuell vorhandenen Lipase eine Fettsynthese stattfindet, während der Ölversuch die eventuelle Fettspaltung dartun sollte. Doch konnte im ersteren keine Synthese, im zweiten keine Spaltung nachgewiesen werden. Die Lipase wurde also weder vom Öl, noch von der Ölsäure gelöst.

In den nachstehenden Tabellen sind die zahlenmäßigen Daten dieser Versuche zusammengestellt.

Tabelle I.

Versuchsnummer				Versuch 1			Versuch 2		
				Menge des angesetzten Öles g	Verbrauchte Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-NaOH auf das ganze Öl g	Verbrauchte Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-NaOH auf 1 g Öl berechnet g	Menge des angesetzten Öles g	Verbrauchte Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-NaOH auf das ganze Öl g	Verbrauchte Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-NaOH auf 1 g Öl berechnet g
1	Sesamöl	Reines Öl bei 38 bis 40° C im Thermostat 24 Std. lang gehalten.	Analyse I	6,00	4,70	0,78	—	—	—
			„ II	15,47	12,10	0,78	—	—	—
2	Sesamöl	Reines Öl 5 Std. lang mit Pankreassaft geschüttelt, mit Wasser emulgiert, im übrigen wie vorher.	Analyse I	4,90	19,40	3,96	9,39	73,00	7,77
			„ II	6,86	26,00	3,79	8,49	69,95	8,24
3	Sesamöl	Wie vorher, nur statt Wass. in Vers. 1 m. 5,7 ccm, in Vers. 2 mit 11,4 ccm $^{n}/_{5}$-NaOH emulgiert.		9,29	29,80	4,28	11,57	62,94	8,12
4	Sesamöl	Reines Öl 5 Std. lang mit Pankreassaft geschüttelt, nach Schütteln titriert. (Kontrollversuch.)	Analyse I	4,60	19,70	4,28	10,11	79,30	7,84
			„ II	—	—	—	5,05	39,90	7,90
5	Olivenöl	Reines Öl bei 38 bis 40° C im Thermostat 24 Std. lang gehalten.		8,25	7,55	0,91	—	—	—
6	Olivenöl	Reines Öl 5 Std. lang mit Pankreassaft geschüttelt, mit Wasser emulgiert, im übrigen wie vorher.	Analyse I	6,00	24,65	4,10	6,00	41,74	7,12
			„ II	—	—	—	11,77	74,57	6,34
7	Olivenöl	Wie vorher, nur statt Wasser mit 11,4 ccm $^{n}/_{5}$-NaOH emulgiert.	Analyse I	—	—	—	11,55	53,16	7,10
			„ II	—	—	—	17,23	93,33	7,21
8	Olivenöl	Reines Öl 5 Std. lang mit Pankreaspreßsaft geschüttelt, nach Schütteln titriert.	Analyse I	6,35	26,50	4,28	10,43	73,69	7,07
			„ II	—	—	—	7,65	55,41	7,24

Tabelle II.

Versuchsnummer			Versuch 1 Verbrauchte ccm	Versuch 2 $^{n}/_{10}$-NaOH ccm
9	Ölsäure	Ölsäure 6 Std. lang mit Pankreaspreßsaft geschüttelt, 0,2 ccm mit 3 g Glycerin vermischt, sogleich titriert	13,6	13,5
10		Wie vorher, nur nach 24 Std. langem Stehen im Thermostat titriert	14,1	13,9
11		Wie Versuch 9. 0,2 ccm Ölsäure + 3 g Olivenöl versetzt, sogleich titriert	13,2	14,2
12		Wie Versuch 10. 0,2 ccm Ölsäure + 3 g Olivenöl im Thermostat 24 Std. lang gestanden, nachher titriert	13,3	13,4

Gegen diese Versuche kann nun aber noch der Einwand erhoben werden, daß die Lipase durch das vorhergehende Schütteln ihre Wirksamkeit eingebüßt hat. An das mußte deshalb gedacht werden, weil Abderhalden[1]) und nach ihm mehrere, besonders Signe und Sigval Schmiedt-Nielsen[2]) behaupteten, daß einige Enzyme, insbesondere Pepsin und Lab, durch Schütteln an Wirksamkeit verlieren. Ich habe daher Versuche mit geschütteltem und ungeschütteltem Pankreassaft angestellt und habe in der Lipasewirkung keinen Unterschied nachweisen können. Ich muß aber besonders betonen, daß in einer Versuchsreihe eine „Inaktivierung" sich zeigte, die aber der fehlerhaften Versuchseinrichtung zugeschrieben werden muß. In Versuch 1, in dem ich nämlich zur Fällung des Eiweißes und des Gummi arabicum viel Alkohol der mit Pankreaspreßsaft versetzten Ölemulsion zusetzte und mit Phenolphthalein als Indicator heiß titrierte, erhielt ich bei Parallelproben ganz verschiedene unsichere Werte (s. Tabelle III, Versuch 1).

Das veranlaßte mich dann, bei meinen weitereren Versuchen (Versuch 2) das Gemisch mit Petroläther auszuschütteln und erst nachher zu titrieren. So konnte der Nachweis erbracht werden, daß die Lipase durch Schütteln an Wirkung nichts einbüßt.

1) Zitiert nach Oppenheimer, Enzyme, Allg. Teil, S. 33.
2) Schmiedt-Nielsen, Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 1910.

Tabelle III.

	Versuch 1 mit viel Alkohol versetzt		Versuch 2 mit Petroläther extrahiert			
	Verbrauchte Kubikzentimeter $^n/_{10}$-NaOH					
	Probe I	Probe II	Probe I	Probe II	Probe I	Probe II
Vor dem Schütteln	17,4	14,9	27,62	27,50	24,52	24,43
Nach dem Schütteln	10,6	9,8	28,85	28,70	23,30	23,40

Meine Versuche sprechen demnach dafür, daß die Fettspaltung durch Pankreaslipase eine solche heterogene Reaktion ist, bei der die Lipase in keiner der Phasen gelöst ist, sondern allem Anscheine nach eine Suspension bildet.

Für die Suspension spricht auch der Umstand, daß die Kanitzschen[1]) Glycerinextrakte des Pankreas durch Pukallfilter nicht, wohl aber durch gehärtetes Filterpapier durchgehen; das würde einer Teilchengröße der suspendierten Partikelchen von 0,2 bis 2 μ entsprechen[2]).

[1]) Kanitz, Über Pankreassteapsin und über die Reaktionsgeschwindigkeit mittels Enzyme bewirkter Fettspaltung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 482, 1905.

[2]) W. v. Ostwald, Grundriß der Kolloidchemie, 2. Aufl., S. 6.

Enzymwirkung und elektrolytische Dissoziation.

Von

Hugo Rohonyi.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Mit 1 Figur im Text.

I.

Seitdem wir wissen, daß die Wirkung der Enzyme nicht an die Lebensfunktion der sie enthaltenden Zellen gebunden ist (Buchner) und daß die unorganischen Katalysatoren und besonders die kolloidalen Metallösungen ganz ähnlich über mehrere charakteristische Eigenschaften der Enzymwirkungen verfügen (Bredig), hat die Enzymfrage alles Mystische verloren. Seitdem beschränkt sich die Enzymfrage im wesentlichen darauf, 1. wie sind die Gesetze der chemischen Kinetik gleich wie bei den unorganischen Katalysen auch auf die Wirkung der Enzyme auszudehnen und so eine exakte mathematische Beschreibung derselben zu geben; 2. wie kann man die Abweichungen der komplizierteren kinetischen Gesetzmäßigkeiten der Enzymwirkungen von den einfachen kinetischen Gesetzen erklären resp. sie auf diese zurückführen. Diese Aufgabe ist also eine rein physikalisch-chemische, größtenteils eine kolloid-chemische.

Vor 15 Jahren versuchte O. Nasse das Wesen der Enzymwirkung bzw. den Mechanismus mit der Theorie der elektrolytischen Dissoziation zu „erklären"[1]). Die experimentelle Tatsache, auf die er seine theoretischen Folgerungen baut, be-

[1]) O. Nasse, Über die Wirkung der Fermente. Malys Jahrb. 1894, 718.

schreibt Nasse folgendermaßen. Wenn er zur aktiven Lösung irgendeines Enzyms jenen Stoff („Substrat" des Enzyms) gab, auf den es wirkt (z. B. zu Diastaselösung und Stärke), dann war die Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit der ursprünglichen Lösung größer als wenn er denselben Stoff zu derselben durch Kochen inaktivierten Enzymlösung gab. Dieser Unterschied in der Änderung der Leitfähigkeit des aktiven und inaktivierten Enzyms war ganz spezifisch, d. h. er war nur dann vorhanden, wenn er das entsprechende „Substrat" zur Enzymlösung gab; mit anderen Stoffen war die Änderung der Leitfähigkeit der aktiven und inaktiven Enzymlösung gleich.

Mit meinen Untersuchungen wollte ich vor allem zwei Fragen beantworten: 1. ob ein Unterschied zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der aktiven und inaktiven Enzymlösungen besteht; 2. ob während der Enzymwirkung, bis zur Beendigung derselben, sich die Leitfähigkeit des enzymhaltigen Systems ändert.

Bezüglich der ersten Frage fand Nasse, daß der Unterschied zwischen der Leitfähigkeit aktiver und inaktiver Enzymlösungen nicht eindeutig ist, daß in manchen Fällen (Diastase, Invertase) eine inaktive Lösung besser leitet als die aktive; bei anderen Enzymen (Pepsin) ist es umgekehrt. Die Ursache des Unterschiedes glaubt er in jenen Verunreinigungen zu finden, die bei der Darstellung der Enzyme hineingelangen.

Auf die zweite Frage antwortet Nasse, daß die sofort nach der Vermengung der Enzym- und Substratlösungen gemessene Leitfähigkeit, solange die Enzymwirkung dauert, allmählich sinkt. Für diese Erscheinung macht er die Spaltungsprodukte des Substrats verantwortlich.

Die Enzyme, die ich untersuchte, waren Diastase, Pepsin, Ptyalin und Invertase. Die ersten drei waren Mercksche Präparate. Die Invertase stellte ich selbst her aus frischer, reiner Hefe, durch Extrahieren mit destilliertem Wasser; aus dem Filtrate habe ich nach L. Michaelis[1]) durch Schütteln mit Kaolin das Eiweiß entfernt. So erhielt ich eine farblose, reine Lösung. Von der Wirksamkeit aller vier Enzyme habe ich mich in besonderen Versuchen überzeugt.

---

[1]) Bioch. Zeitschr. 7, 722, 1907.

Da bei den vergleichenden Messungen die gleiche Temperatur genau eingehalten werden mußte, wurden die Elektroden immer in den Ostwaldschen, auf $^1/_{10}{}^0$ genau einstellbaren Wasserthermostaten gestellt und erst nach dem Ausgleich der Temperatur gemessen. Bei den Versuchen, in denen ich die Änderung der Leitfähigkeit im Verlaufe der Enzymwirkung verfolgte, verhinderte ich die Fäulnis durch Toluol, das die Wirkung der untersuchten Enzyme nicht im geringsten schädigt.

Die Messung der Leitfähigkeit wurde mit Tauchelektroden nach der Kohlrauschschen Telephonmethode ausgeführt. Die Werte der spezifischen Leitfähigkeit (K) sind in reziproken Ohm-Zentimeter ausgedrückt.

II.

Zunächst führe ich die erhaltenen Werte der spezifisch elektrischen Leitfähigkeit aktiver und inaktiver Enzymlösungen an. Die Lösungen der betreffenden Enzyme wurden mit destilliertem Wasser hergestellt.

Temperatur °C	Enzymlösung	%	$K \cdot 10^4$ aktiv	$K \cdot 10^4$ inaktiv
38	Diastase	1	9,50	9,78
22	„	0,5	4,07	4,33
22	„	0,5	3,89	4,15
16	„	0,2	1,73	1,95
16	„	0,2	1,69	1,90
17,5	Pepsin	1	9,46	9,89
38	Ptyalin	0,5	4,35	4,86
16	Invertaselösung		19,4	20,2

Die Inaktivierung geschah so, daß ich die Lösung einige Minuten auf 100° erwärmte.

Die Zahlen zeigen, daß die Leitfähigkeit der inaktiven Lösung größer ist als die der aktiven. Man konnte an zwei Umstände denken, die diese Änderung hervorrufen: 1. daß während der Inaktivierung in der Flüssigkeit ein geringer Niederschlag entstand (die Flüssigkeit wurde opaker), 2. daß die Lösung infolge Wasserverdampfung konzentrierter wurde. Daß nicht die erstgenannte Veränderung für die Leitfähigkeitsvergrößerung verantwortlich gemacht werden kann, habe ich in folgender Weise zu beweisen getrachtet: Eiweißlösungen habe ich 1 bis 2 Sekunden auf 75° C erwärmt, wobei das Eiweiß größtenteils gefällt wurde,

ohne daß die Lösung sich in bemerkenswerter Weise konzentriert hätte; die Leitfähigkeit der Lösung habe ich vor der Fällung (K_1) und nach der Fällung (K_2) gemessen.

	$K_1 \cdot 10^4$	$K_2 \cdot 10^4$
Serumglobulin (1,5 °/₀)	2,01	1,95
Serumalbumin + -globulin (0,5 °/₀)	1,46	1,35

Die erhitzte, also die „inaktivierte" Lösung, leitete weniger als die aktive. Hieraus folgt mit großer Wahrscheinlichkeit, daß die vorher beschriebene Erscheinung — die Erhöhung der Leitfähigkeit — nicht durch Eiweißfällung verursacht sein kann.

Die Wirkung der Wasserverdampfung haben die folgenden Versuche gezeigt. Ich habe die Leitfähigkeit einer genau gewogenen Enzymlösung gemessen (K_I); nachher inaktivierte ich sie durch Kochen und habe der gefundenen Gewichtsverminderung (1 bis 1,5 g) entsprechend mit demselben destillierten Wasser, in dem das Enzym gelöst war, das verdampfte Wasser auf der Wage genau ersetzt und die Leitfähigkeit neuerdings gemessen (K_{II})

	°/₀	$K_I \cdot 10^4$	$K_{II} \cdot 10^4$
Diastase . . .	0,5	4,46	4,48
Diastase . . .	0,5	4,27	4,26
Ptyalin . . .	0,5	4,35	4,37
Pepsin . . .	1	9,46	9,44

Nach dem Ersetzen des Wassers erreichte also die Leitfähigkeit ihren ursprünglichen Wert, so daß wir sagen können, daß bei der Inaktivierung die Leitfähigkeit der Enzymlösungen deshalb größer wird, weil die Lösungen infolge Wasserverdampfung sich konzentrieren.

III.

Die zweite Frage war, wie ändert sich die Leitfähigkeit eines Enzymsystems vom Anfange der Enzymwirkung bis zu deren Beendigung? Wenn die Spaltungsprodukte des Nicht-Elektrolytsubstrates Elektrolyte sind, sehen wir natürlich die Leitfähigkeit parallel der Wirkung steigen, wie z. B. bei der Trypsinspaltung des Eiweißes. Es eignete sich daher für unsere Zwecke nur die Stärke- und Rohrzuckerspaltung, wo die Spaltungsprodukte praktisch Nicht-Elektrolyte sind.

Ich bereitete zu diesen Versuchen die Enzymlösung — Diastase, Invertase — und die Substratlösung — Stärke, Gly-

kogen, Rohrzucker — jede für sich, sättigte sie im Scheidetrichter mit Toluol und setzte sie, jede für sich, in ein Gefäß in den auf 38° C geheizten Wasserthermostat. Erst nach $^1/_4$ Stunde vermengte ich sie. Sofort nach der Vermengung wurde die Leitfähigkeit des Systems gemessen und die Messung in bestimmten Intervallen wiederholt. Als Kontrolle habe ich gleichzeitig dieselben Versuche mit inaktivierten Enzymsystemen ausgeführt. Zuerst untersuchte ich das Diastasestärkesystem (da Nasse sich hauptsächlich auf dieses beruft); die Hydrolyse der Stärke verfolgte ich mittels Jodlösung. Mit * bezeichne ich den Zeitpunkt, wo die aus der Lösung genommene Probe mit Lugollösung sich nicht mehr färbte.

1. 20 ccm 0,5 $^0/_0$ige Diastaselösung + 20 ccm 2 $^0/_0$ige Stärkelösung. Ohne Toluol.

2. Dasselbe, mit Toluol gesättigt.

Dauer der Enzymwirkung	1 $K \cdot 10^4$	2 $K \cdot 10^4$
0 Minuten	3,16	3,13
10 „	3,18	3,15
25 „	3,22	3,17
40* „	3,27	3,19
55 „	3,33	3,20
75 „	3,41	3,20

3. 20 ccm 1 $^0/_0$ige Diastaselösung + 20 ccm 3 $^0/_0$ige Stärkelösung.

4. 20 ccm 0,2 $^0/_0$ige Diastaselösung + 20 ccm 3 $^0/_0$ige Stärkelösung.

Dauer der Enzymwirkung	3 $K \cdot 10^4$	4 $K \cdot 10^4$
0 Minuten	4,85	2,72
15 „	4,94	2,79
40 „	4,98*	2,82
60 „	4,98	2,84*
80 „	—	2,84

5. 20 ccm 0,5 $^0/_0$ige Diastaselösung + 20 ccm 5 $^0/_0$ige Stärkelösung.

Dauer der Enzymwirkung	5 $K \cdot 10^4$
0 Minuten	3,37
25 „	3,52
40* „	3,55
60 „	3,55

Ich erhielt dasselbe Ergebnis, wenn ich anstatt Stärke Glykogen nahm, nur war dann die Zunahme der Leitfähigkeit größer.

6. 20 ccm 0,5 %ige Diastaselösung + 20 ccm 3 %ige Glykogenlösung

Dauer der Enzymwirkung	6 $K \cdot 10^4$
0 Minuten	34,5
15 „	35,1
60* „	35,7
90 „	35,7

War dagegen die Diastase inaktiviert, so konnte ich keine Änderung der Leitfähigkeit beobachten.

7. 20 ccm 0,5 %ige inaktivierte Diastaselösung + 20 ccm 5 %ige Stärkelösung.

	7 $K \cdot 10^4$
Sofort nach dem Zusetzen der Diastase . .	3,61
Nach 15 Minuten	3,62
„ 60 „	3,62

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Leitfähigkeit des Diastase-Stärkesystems während der Spaltung sich nicht vermindert, wie es Nasse behauptet, sondern im Gegenteil, sie wächst. Die Größe dieser Änderung ist unabhängig von der Konzentration des Enzyms, die nur die Geschwindigkeit der Änderung beeinflußt; vielmehr hängt sie von der Qualität des Substrats, ob Glykogen oder Stärke, und von dessen Konzentration ab. Die Zunahme der Leitfähigkeit ist am größten in der ersten ¼ Stunde der Enzymwirkung, im Dextrinstadium ist sie noch vorhanden; beim Eintreten des Achroo-Dextrinstadiums wächst die Leitfähigkeit nicht mehr, wenn auch die Enzymwirkung noch fortdauert.

Um das Verhältnis dieser Änderungen zur Enzymwirkung weiter zu prüfen, habe ich in weiteren Versuchen gleichzeitig das Vorschreiten der Hydrolyse durch Bestimmung der gebildeten Zuckerquantitäten gemessen. Den gebildeten Zucker bestimmte ich nach der Pavy-Sahli-Kumagawaschen Methode; um zu erfahren, ob eventuell eine Bakterienentwicklung stattgefunden hat, habe ich aus dem Bodensatz der Proben, die ich aus dem Enzymsystem zeitweise auspipettierte und zentrifugierte, Deckglaspräparate gemacht und auf Bakterien gefärbt.

1. 0,5 °/₀ige Diastaselösung + 2 °/₀ige Stärkelösung āā.

Dauer der Enzymwirkung	$K \cdot 10^4$	Zucker
0 Minute	3,42	—
1 „	3,44	—
2 Minuten	3,45	—
4 „	3,46	0,24 °/₀
9 „	3,47	—
17 „	3,478	0,28 °/₀
55 „	3,478	0,32 °/₀
75 „	3,48	0,36 °/₀
120 „	3,48	0,39 °/₀

2. 0,5 °/₀ige Diastaselösung + 5 °/₀ige Stärkelösung āā.

Dauer der Enzymwirkung	$K \cdot 10^4$	Bakterien
0 Minuten	3,78	—
2 „	3,82	—
4 „	3,85	—
8 „	3,88	—
13 „	3,89	—
18 „	3,90	—
23 „	3,905	—
38 „	3,91	—
120 „	3,92	—
180 „	3,92	—
195 „	3,95	wenig
215 „	4,00	—
235 „	4,06	viel

Die Daten dieser Tabelle habe ich auch graphisch dargestellt. (Fig. 1.) Die Kurven *A* und *B* zeigen die Änderung der Leitfähigkeit, die Kurven *a* und *b* die Änderung des Zuckergehaltes.

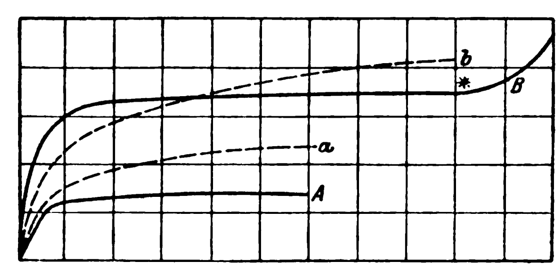


Fig. 1.

Aus diesen Kurven sehen wir deutlich, daß die Zunahme der Leitfähigkeit nur eine Zeit lang der Zunahme des Zucker-

gehaltes folgt; dann bleibt die Leitfähigkeit unverändert, während der letztere noch weiter wächst. Dem einander sehr ähnlichen Anfangsteil der Kurven dürfte auch dieselbe analytische Gleichung entsprechen. Diese Ähnlichkeit spricht entschieden dafür, daß die Zunahme der Leitfähigkeit der Erfolg eines solchen Prozesses ist, der in einem engen Zusammenhang mit dem ersten Teile der Hydrolyse, mit der Spaltung der Stärke und Dextrine, ist. Sobald aber die mit Jod sich färbenden Dextrine verschwinden, hört der die Erhöhung der Leitfähigkeit erzeugende Prozeß auf, obzwar die Enzymwirkung-Entstehung der Disaccharide — noch dauert. Dieses Verhalten der Leitfähigkeitsänderung legte den Gedanken nahe, daß dieselbe mit der eigentlichen Enzymwirkung nichts zu tun hat.

Ich mußte daran denken, daß die Zunahme der Leitfähigkeit nur dadurch verursacht wird, daß die an Stärke- bzw. Glykogenteilchen adsorbierten oder chemisch gebundenen Salze während der Hydrolyse frei werden und in Lösung übergehen. Diese Vermutung hat sich als richtig erwiesen. Ich überzeugte mich davon, daß die von mir benutzten Stärke und Glykogen tatsächlich Asche enthielten, deren Menge ich durch vorsichtiges Veraschen — Extraktion der Kohle mit heißem Wasser — bestimmte. Die Stärke gab 0,4°/₀ Asche, von der 10°/₀ in Wasser löslich war. Die elektrische Leitfähigkeit einer Stärkelösung kann nur von ihrem Salzgehalt herrühren; bei der Lösung der Stärke geht eben ein Teil der Aschenbestandteile auch in Lösung. 3°/₀ Stärke hat die Leitfähigkeit des als Lösungsmittel verwendeten dest. Wassers bei 38°C von $0{,}20 \times 10^{-4}$ auf $0{,}68 \times 10^{-4}$ erhöht. So geht aber bloß ein Teil der Aschenbestandteile in Lösung, der andere Teil ging bei der hydrolytischen Spaltung der Stärke in Lösung und verursachte die Erhöhung der Leitfähigkeit während der Enzymwirkung. Diese Erhöhung war in der zweifachen Verdünnung des Enzymsystems (Seite 180, Versuch 3) $4{,}98 \times 10^{-4} - 4{,}85 \times 10^{-4} = 0{,}13 \times 10^{-4}$. In einer 3°/₀igen Stärkelösung geriet im ganzen 0,12°/₀ (3 × 0,04°/₀) Salz in die Lösung und erhöhte deren Leitfähigkeit um $0{,}48 \times 10^{-4} + 2 \cdot 0{,}13 \times 10^{-4} = 0{,}75 \cdot 10^{-4}$ rec. Ohm-cm. Wenn wir in destilliertem Wasser so viel NaCl lösen, so können wir beiläufig eine ebenso große Zunahme der Leitfähigkeit beobachten.

Der Aschegehalt des von mir benutzten Glykogens war viel größer (8,3 %); und darin besteht die Ursache, daß die Leitfähigkeit seiner Lösung und deren Zunahme während der Spaltung größer war als bei der Stärke.

Den strikten Beweis dafür, daß die Erhöhung der Leitfähigkeit allein von den Salzen der Stärke bedingt ist, wollte ich so erbringen, daß ich eine genau gewogene Menge Stärke verbrannte, deren ganze Asche in Wasser auflöste und die hierdurch bewirkte Leitfähigkeitszunahme feststellte; diese mußte beiläufig so groß sein wie die Summe der während der Lösung und Hydrolyse beobachteten Änderungen. Ich fand, daß die Asche von 3 g Stärke in 100 ccm destillierten Wassers die Leitfähigkeit von $2 \cdot 10^{-5}$ nur auf $6,38 \cdot 10^{-5}$ erhöhte, also weniger als die Auflösung von 3 g Stärke, da die Leitfähigkeit einer 3 %igen Stärkelösung bei derselben Temperatur $6,8 \cdot 10^{-5}$ ist. Die Ursache dieses übrigens unbedeutenden Unterschiedes kann darin bestehen, daß bei der Verbrennung die Zusammensetzung der Salze und so auch ihre Löslichkeit sich teilweise geändert hat.

Wenn schon diese Versuche für die Wahrscheinlichkeit meiner Voraussetzung sprechen, so konnte ich auf anderem Wege unzweideutig beweisen, daß, wenn es ausgeschlossen ist, daß Salze in die Lösung gelangen, die Veränderung der Leitfähigkeit ausbleibt, womit auch bewiesen ist, daß die im Diastasestärkesystem während der Enzymwirkung bemerkte Leitfähigkeitsänderung der Ausdruck eines sekundären, vom Wesen der Enzymwirkung unabhängigen Prozesses ist. Ich habe zu diesem Zwecke die Hydrolyse eines aschefreien Stoffes untersucht. Da es mir selbst durch langdauernde Dialyse nicht gelungen ist, die Stärke von ihren Salzen vollkommen zu befreien, untersuchte ich die Inversion des Rohrzuckers mittels Invertase.

Die Methode war dieselbe wie bei Diastase-Stärke. Das Vorschreiten der Inversion habe ich mittels Polarisation verfolgt.

1. 20 ccm 10 %ige Rohrzuckerlösung + 2 ccm Invertaselösung. 38° C.

Dauer der Enzymwirkung	$K \cdot 10^4$	Drehung
0 Minuten	2,07	+ 6° 23′
15 „	2,09	+ 5° 13′
30 „	2,08	+ 4° 43′.

2. 60 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm Invertaselösung. 38° C.

Dauer der Enzymwirkung	$K \cdot 10^4$	Drehung
0 Minuten	2,74	+ 3,44°
10 „	2,74	
20 „	2,72	+ 2,59°
35 „	2,72	+ 2,03°
3 Stunden	2,75	+ 0,06°.

Bei Verwendung von aschefreiem Rohrzucker hat sich während der Inversion die elektrische Leitfähigkeit tatsächlich nicht verändert.

IV.

Die angeführten Beobachtungen wiederlegen aber Nasses Hypothese von der dissoziierenden Wirkung der Enzyme noch nicht vollständig. Ich konnte nämlich zwar beweisen, daß sich die elektrischen Dissoziationsverhältnisse während der Spaltung nicht ändern; man kann sich jedoch vorstellen, daß sie sich im Momente des Beginnes der Enzymwirkung ändern und nachher bloß weiterbestehen. Die nach der Vermengung vollzogene Messung (bei 0 Minuten) kann schon die veränderten Verhältnisse getroffen haben, und deshalb fanden wir weiter während der Enzymwirkung keine Änderung. Diese — allerdings sehr unwahrscheinliche — Voraussetzung suchte ich folgenderweise zu prüfen: ich habe die Leitfähigkeit einer aktiven Enzymlösung gemessen, nachher gab ich das entsprechende Substrat hinzu und notierte die Änderung der Leitfähigkeit. Dasselbe habe ich mit der inaktiven Lösung des Enzyms getan. Solche Messungen hat auch Nasse gemacht, ja er hat sogar aus diesen allein Schlüsse gezogen. Er hat gefunden, daß die Zunahme der Leitfähigkeit der aktiven Lösung größer war, wie die der inaktiven, im Falle er das spezifische, dem Enzyme entsprechende Substrat zur Enzymlösung gab; wurde ein nicht adäquates Substrat zugesetzt, so war die Änderung beim aktiven und inaktiven Enzym die gleiche.

Meine Versuche stellte ich alle bei 38° C an. Die Stärke habe ich bereits in Lösung zugesetzt:

	$K \cdot 10^4$
1a) 0,5%ige aktive Diastaselösung . .	5,44
+ 1%ige Stärkelösung āā	3,50
Änderung	— 1,94

		$K \cdot 10^4$
1b)	0,5%ige inaktive Diastaselösung .	5,58
	+ 1%ige Stärkelösung āā	3,47
	Änderung	— 2,11
2a)	0,5%ige aktive Diastaselösung . .	6,04
	+ 3%ige Stärkelösung āā	4,24
	Änderung	— 1,80
2b)	0,5%ige inaktive Diastaselösung .	6,20
	+ 3%ige Stärkelösung āā	4,22
	Änderung	— 1,98
3a)	1%ige aktive Diastaselösung . .	9,47
	+ 2%ige Stärkelösung āā	5,75
	Änderung	— 3,72
3b)	1%ige inaktive Diastaselösung .	9,72
	+ 2%ige Stärkelösung āā	5,74
	Änderung	— 3,98

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Leitfähigkeit der Enzymlösung durch Zugabe der Stärke in jedem einzelnen Falle gesunken ist; dies ist auch natürlich, da die Leitfähigkeit der Stärkelösung nur wenig größer ist, wie die des destillierten Wassers, und so haben wir eigentlich durch die Zugabe der Stärkelösung die Diastaselösung aufs Doppelte verdünnt. Die Versuche zeigen aber auch, daß die Abnahme der Leitfähigkeit n der inaktiven Lösung, wenn auch nicht um vieles, aber stets größer ist als in der aktiven. Deshalb müssen wir aber noch nicht annehmen, daß das aktive Enzym eine dissoziierende Wirkung besitzt. Es kann sich hier um eine einfache kolloidchemische Erscheinung handeln: es ist nämlich möglich, daß durch die Inaktivierung eine solche physikalisch-chemische Veränderung der Enzyme (z. B. Viscosität) zustandegekommen ist, die die Änderung der Leitfähigkeit ihrer Lösungen anders beeinflußt. In diesem Falle ist diese Änderung der Leitfähigkeit natürlich nicht an die Gegenwart des spezifischen Substrates gebunden, sondern kann beim Zusetzen irgendeiner indifferenten Substanz eintreten. Nur wenn sie im Sinne Nasses an die spezifische Enzymwirkung gebunden ist, kann sie nur bei gleichzeitigem Vorhandensein des adäquaten Substrates in Erscheinung treten. Ich setzte deshalb Elektrolytlösungen zu aktiven und inaktiven Enzymlösungen.

A = Änderung der Leitfähigkeit der aktiven Lösung nach Zugabe der NaCl-(bzw. HCl-)Lösung.

B = Änderung der Leitfähigkeit der inaktiven Lösung nach Zugabe der NaCl-(bzw. HCl-)Lösung.

1. 20 ccm 0,5%ige Diastaselösung + 10 ccm $^n/_{100}$-NaCl-Lösung.

A = $+ 2{,}35 \cdot 10^{-4}$

B = $+ 1{,}18 \cdot 10^{-4}$

2. 1%ige Pepsinlösung + $^n/_{200}$-NaCl-Lösung āā

A = $+ 2{,}40 \cdot 10^{-4}$

B = $+ 1{,}90 \cdot 10^{-4}$

3. 1%ige Pepsinlösung + $^n/_{100}$-NaCl-Lösung āā

A = $+ 3{,}60 \cdot 10^{-4}$

B = $+ 3{,}00 \cdot 10^{-4}$

4. 0,5%ige Diastase + $^n/_{100}$-HCl āā

A = $+ 8{,}04 \cdot 10^{-4}$ B = $7{,}88 \cdot 10^{-4}$
$+ 8{,}01 \cdot 10^{-4}$ $7{,}88 \cdot 10^{-4}$
$+ 8{,}10 \cdot 10^{-4}$ $7{,}95 \cdot 10^{-4}$.

Es hat sich demnach die Leitfähigkeit der Enzymlösungen nach Zugabe der Elektrolyten ebenso verändert, als bei Anwendung des spezifischen Substrates. Die Leitfähigkeit der aktiven Lösungen ist nämlich stärker gestiegen, als die der inaktiven, während nach Zugabe der Stärkelösung die Leitfähigkeit der aktiven Lösung weniger sank, als die der inaktiven, was eine gleichsinnige Beeinflussung bedeutet.

Wir können also feststellen, daß diese Erscheinungen von der Enzymwirkung unabhängig sind. Zu ihrer Erklärung können wir annehmen, daß durch die Inaktivierung die Salzbindungsfähigkeit oder die Adsorptionsfähigkeit des Enzyms größer geworden ist, dementsprechend mehr Salz bindet und so die Ionenkonzentration der zugesetzten Elektrolyte in größerem Maße vermindert, als das aktive Enzym. So viel können wir jedenfalls sagen, daß die Annahme einer kolloidalen Änderung vollkommen genügt, die angeführten Erfahrungen zu erklären. Jede weitergehende Hypothese ist überflüssig.

V.

Eine weitere von mir geprüfte Frage, deren Stellung ich später motivieren werde, war: ob sich die Konzentration der

H-Ionen eines hydrolytischen Enzymsystems während der Enzymwirkung ändert.

Zur Beantwortung dieser Frage bestimmte ich die H-Ionenkonzentration eines aktiven Enzymsystems in zwei nacheinander folgenden Zeitpunkten der Wirkung und verglich die H-Ionenkonzentration eines aktiven und eines inaktiven Systems von gleicher Zusammensetzung. Die Feststellung der H-Ionenkonzentration geschah immer auf elektrometrischem Wege.

Nach Vermengung der Enzym- und Substratlösungen habe ich sofort die (Farkas-Szilischen) H-Elektroden gefüllt, mit Wasserstoff beschickt und in einen Thermostaten gestellt. Gemessen wurde die elektromotorische Kraft folgender Ketten:

H | $^1/_{100}$ HCl | Enzymhalt. Lösung | H.

Die elektromotorische Kraft dieser Ketten war schon nach 2 Stunden konstant. Das Gleichgewicht stellte sich also in den aktiven Lösungen zu einer Zeit ein, wo die Enzymwirkung in voller Kraft war.

Das Ergebnis der Messungen war folgendes: Die elektromotorische Kraft der mit aktiven Enzymen hergestellten Ketten stimmte innerhalb der Fehlergrenzen mit der der inaktiven überein. Dementsprechend konnte ich, wenn in der einen Elektrode ein aktives, in der anderen ein inaktives Enzymsystem war, zwischen den beiden Elektroden keine Potentialdifferenz konstatieren. Wenn nachher die Elektroden mit dem aktiven Enzym neuerdings in den Thermostaten gebracht wurden, ergab sich auch keine Potentialdifferenz.

Diese Messungen waren schon beendigt, als S. P. L. Sörensen[1]) auf Grund seiner ursprünglich für andere Zwecke ausgeführten colorimetrischen H-Ionenkonzentrationsmessungen mitteilte, daß die H-Ionenkonzentration der Invertin- und Pepsinsysteme am Anfang der Wirkung dieselbe ist als am Ende. Meine Messungen beziehen sich auf die Diastase und Invertase.

VI.

Es ist demnach bisher nicht gelungen, irgendeinen Beweis dafür zu erbringen, daß die Enzymwirkung mit einer spezifischen elektrolytischen Wirkung, Dissoziation des Lösungsmittels, ein-

[1]) Sörensen, Enzymstudien, II. Bioch. Zeitschr. 21, 263, 1909.

hergeht, wenigstens gelingt das nicht mit der Methodik, die uns bei der Untersuchung solcher Erscheinungen heute zur Verfügung steht. Die Feststellung dieser Tatsache war um so mehr erwünscht, als neuerdings H. Euler unabhängig von Nasse das Wesen der Katalyse ebenfalls in einer Ionenwirkung zu finden glaubt. Er spricht dies in einer weit bestimmteren Form aus als Nasse: „Allen (diesen) als Katalysen bezeichneten Erscheinungen liegt — sagt Euler — ein gemeinsamer Vorgang zugrunde: die Vermehrung einer oder mehrerer derjenigen Molekülarten, durch die die nicht beschleunigte Reaktion vor sich geht, d. h. bei Anwendung der elektrochemischen Prinzipien auf das Gesamtgebiet der Chemie, die Vermehrung der in die Reaktion eingehenden Ionen"[1]). Diese Auffassung, die seither von mehreren Seiten angegriffen wurde[2]), erhielt eine wesentliche Stütze durch die unabhängig von ihm ausgeführten Untersuchungen von C. Kullgren. Kullgren bestimmte die elektrolytische Dissoziationskonstante des Rohrzuckers bei verschiedenen Temperaturen und fand, daß die bei letzteren beobachteten verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeiten der Säureinversion vom Rohrzucker aus dem Temperaturkoeffizienten der Dissoziationskonstanten desselben abgeleitet werden können. Dies ist nach seiner Meinung der erste Fall, wo es experimentell bewiesen wurde, daß die Geschwindigkeit der Katalyse einer organischen Substanz eine Funktion der Dissoziationskonstante der gespaltenen Substanz ist[3]).

Die Behauptung von Nasse, daß die Leitfähigkeit einer Enzymlösung im Momente der Wirkung wächst, verdiente aus diesem Grunde eine besondere Aufmerksamkeit. Allerdings erklärte Nasse diese, durch meine Untersuchungen übrigens widerlegte, Behauptung auch theoretisch falsch, da er daraus auf die Zunahme der Dissoziation des Wassers folgerte: „. . . kann die somit nachgewiesene bedeutende Zunahme der Leitfähigkeit der substrathaltigen Lösung von rohem Ferment als auf ver-

---

1) H. Euler, Zur Theorie katalytischer Reaktionen. Zeitschr. f. phys. Chem. 36, 644, 1901.

2) Lippmann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 3560; H. E. Armstrong, Proc. Roy. Soc. 73, 437.

3) C. Kullgren, Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit der Inversion mit der Temperatur. Zeitschr. f. phys. Chem, 43, 700.

mehrter Dissoziation des Wassers beruhend angesehen werden, so darf auch der Beweis für die Bildung von Ionen durch Fermente als erbracht gelten"[1]). Daß die untersuchten Enzyme die H˙-Konzentration der Lösung nicht vermehren, haben meine Versuche bewiesen. Ebenso geht auch aus meinen Versuchen hervor, daß die Enzymwirkung mit solchen Änderungen der Dissoziation des Substrates jedenfalls nicht zusammenhängt.

Zum Schlusse möchte ich aber ausdrücklich betonen, daß meine Versuche bloß gegen die durch Enzyme erzeugte „Bildung der Ionen" aus dem Lösungsmittel oder dem Substrate sprechen, sie lassen aber die Frage unberührt, ob die Enzymwirkung nicht eben mit der elektrolytischen Dissoziation der Enzymmoleküle selbst im Zusammenhange steht. Eine solche Annahme machte auf Grund theoretischer Betrachtungen Jacques Loeb[2]). Die Enzyme würden nach dieser Auffassung als eiweißartige Körper gleich Säuren oder Basen oder amphoteren Elektrolyten in ihrer wässerigen Lösung dissoziiert sein und die fermentative Wirkung nur durch die elektrisch geladenen Enzymionen auslösen. Ich habe einige Versuche gemacht, die ebenfalls für diese Annahme sprechen.

Zusammenfassung.

1. Die Differenz in der Leitfähigkeit von aktiven und inaktiven Enzymlösungen (Diastase, Invertase, Ptyalin, Pepsin) wird dadurch verursacht, daß während des inaktivierenden Kochens Wasser verdampft, wodurch die Lösung eingeengt wird. Diese Differenz verschwindet daher nach dem Zufügen des verdampften Wassers.

2. Bei der Hydrolyse der Stärke wächst die elektrische Leitfähigkeit deshalb, weil die während der Spaltung der Stärke frei werdenden (adsorbierten) Salzmoleküle in die Lösung gelangen. Wählt man ein Substrat (Rohrzucker), das keine adsorbierten Salze enthält, so wächst während der Hydrolyse (Invertase) desselben die elekrische Leitfähigkeit der Lösung nicht.

---

[1]) Malys Jahrbericht 1894, 722.

[2]) Jacques Loeb, Elektrolytische Dissoziation und physiologische Wirksamkeit von Pepsin und Trypsin. Bioch. Zeitschr. 19, 6, 1909.

3. Beim Zusetzen des Substrates (Stärke, Rohrzucker) wird die elektrische Leitfähigkeit des aktiven Enzymsystems in einem anderen Verhältnisse geändert, wie die des inaktivierten. Dieser Unterschied ist aber nicht durch das spezifische — dem Enzym adäquate — Substrat bedingt, sondern zeigt sich auch beim Zusatz eines indifferenten Elektrolyten.

4. Die H-Ionenkonzentration der Lösung bleibt während der Wirkung der Diastase und Invertase unverändert. Auch besteht kein Unterschied im $H^{\cdot}$-Gehalt der aktiven und inaktivierten Lösung dieser Enzyme.

Meine Versuche habe ich unter der Leitung und nach Angaben des Herrn Prof. Franz Tangl ausgeführt.

Untersuchungen über die Veränderung der physikalischen und chemischen Eigenschaften des Blutserums während des Hungerns.

Von

Michael Polányi.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und physiologische Chemie der Universität Budapest. Direktor: F. Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Allgemeines.

Im Nachfolgenden berichte ich über 4 Versuche, in denen ich eine Reihe physikalischer und chemischer Konstanten des Blutserums von Hunden im normalen Zustande und nach 4 bis 21 tägigem Hungern bestimmt habe. Es war mir dabei daran gelegen, jedesmal eine größere Anzahl dieser Konstanten zu bestimmen, denn es boten mir einerseits die einfachen Beziehungen zwischen den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Serums ein Mittel, um die chemischen und physikalischen Messungen unter sich zu kontrollieren, andererseits konnte die gefundene Übereinstimmung wieder jene vorausgesetzten Beziehungen sicherstellen.

Zu solchen Bestimmungen hatte ich natürlich eine größere Menge Serum nötig, und dies war die erste Schwierigkeit des Versuchs. Es ist nämlich immer eine offene und leider nicht immer gleich beachtete Fehlerquelle derartiger Versuche, daß die Blutentnahme an sich die Zusammensetzung des Blutes ändert und die Ergebnisse in unbestimmter Weise beeinträchtigt. Andererseits mußte ich dem Umstande Rechnung tragen, daß die Zusammensetzung des Serums bei demselben Tiere durch

Nahrungs- und Wasseraufnahme sowie Körperbewegung sich ändert. Ich verglich deswegen die Hungerwerte mit den am ruhenden und nüchternen Tiere gemachten Messungen. Um die Folgen der Blutentnahme möglichst zu verringern, habe ich nur an großen Hunden experimentiert und zu den Messungen nur die unbedingt nötige Blutmenge entnommen.

Methodik.

Meine Versuche habe ich an 4 Hunden (Nr. I bis IV) ausgeführt. Hund I ging während des Hungers zugrunde, seine Normalwerte enthält die erste Kolumne in Tabelle I, II, III und IV.

Das Blut zur Bestimmung der Nüchternwerte wurde 24 Stunden nach der letzten Fütterung und 6 bis 7 Stunden nach dem letzten Tränken entnommen.

Die entnommene Blutmenge war möglichst gering im Vergleich zum Gewichte des Tieres. Die meisten Tiere wogen um 30 kg, es wurde 180 bis 200 ccm Blut genommen. Das steril aufgefangene Blut ließ ich 24 Stunden in der Kälte stehen, dann wurde das Serum abgeschöpft und zentrifugiert. Um auch den Einfluß dieses kleinen Blutverlustes völlig zu verwischen, fütterte ich das Tier wieder 6 Tage und setzte erst dann mit dem Hungern ein. Auch habe ich mich zur Stichprobe einmal davon überzeugt, daß der aus einer kleinen Blutprobe bestimmte N-Gehalt des Serums nach diesen 6 Tagen wirklich der ursprüngliche war.

Das Hungern dauerte 14 oder 21 Tage. Die Hunde wurden im Käfig gehalten; nicht im Dunkeln. Hund I bis III blieb ohne Wasser, Hund IV hatte Wasser nach Belieben, er trank aber nur wenig (s. Tabelle I), auch hatte dies keinen merklichen Einfluß auf die Versuchsergebnisse.

Nach der angegebenen Versuchszeit wurde dem hungernden Tiere wieder Blut entzogen und der Versuch beendigt. Einen Ausnahmefall bildet Tier III. Hier habe ich nach Beendigung des Versuchs Nr. 5 das Tier wieder 14 Tage gefüttert und dann einer zweiten Hungerperiode von drei Wochen unterworfen. Da diese zweite Periode noch jene Veränderungen stärkte, die von der ersten verursacht wurden, so konnten ihre Ergebnisse als selbständiger Versuch (Nr. 6) für den Einfluß des Hungerns gelten. Auch bei Tier IV verfolgte ich den Versuch etwas weiter: nach der Entnahme des Hungerblutes fütterte ich dasselbe 14 Tage und untersuchte das Blut wieder, um zu beobachten, wie weit seine Eigenschaften sich regeneriert hatten.

Folgende Bestimmungen wurden ausgeführt:

1. Chemische Bestimmungen.

Der Eiweißgehalt wurde aus dem N-Gehalt durch Multiplikation mit 6,25 berechnet. Der N wurde in 3 bis 4 ccm Serum nach Kjeldahl bestimmt. Den Trockengehalt erhielt ich durch Eindampfen von 5 bis 10 ccm Serum auf dem Wasserbade und

Trocknen im Vakuum über P_2O_5. Der Trockenrückstand wurde ohne Glühen verascht und ausgezogen, dann im Filtrat und Rückstand die wasserlösliche bzw. wasserunlösliche Asche bestimmt. Im Filtrat wurde noch das Cl nach Volhard titriert. Den Cl-Gehalt habe ich in $^0/_0$ NaCl ausgedrückt. Das Fett wurde nach Soxhlet durch 48stündige Petrolätherextraktion aus 10 ccm im Vakuum bei Zimmertemperatur eingetrocknetem Serum bestimmt, in einer zweiten Probe mittels der Verseifungsmethode von Liebermann und Székely aus 10 bis 15 ccm Serum. Wegen der kleinen Menge Serum, die ich benutzte, wurde statt der vorgeschriebenen 20, 40 ccm Petroläther neutralisiert und eingedampft. Auf diese Methode kehre ich noch zurück. Jede Analyse habe ich doppelt ausgeführt.

2. Physikalisch-chemische Bestimmungen. Dieselben wurden, um etwaigen Veränderungen durch Zersetzung vorzubeugen, womöglich binnen 24 Stunden nach der Herstellung des Serums ausgeführt. Ich bestimmte die Refraktion bei 22° C mit dem Pulfrichschem Refraktometer; die Viscosität bei 38° mit dem Beck-Hirschschen Apparat (gleichtemperiertes Wasser = 1); die Oberflächenspannung bei 20° mit der Tropfmethode nach Traube $\left(\text{Wasser} = 7{,}45 \frac{\text{dyn}}{\text{cm}}\right)$; das spez. Gewicht bei 20° C mit dem Pyknometer. Die Bestimmung der Gefrierpunkterniedrigung machte ich mit einem Präzisionskryoskop mit Vorkühlung nach den Vorschriften von Nernst und Abegg (Vorkühlung, Vorbestimmung der Konvergenztemperatur, Eiskorrektion usw.). Die Leitfähigkeit wurde bei 20 und 38° gemessen, außerdem noch im doppelt verdünntem Serum bei 20° nach Kohlrausch mit Wheatstonescher Brücke und mit Telephon als Nullinstrument. Die Leitfähigkeitswerte korrigierte ich vor allem nach Bugarszky und Tangl[1]), indem ich für jedes Prozent Eiweiß 2,5 $^0/_0$ ihres Wertes hinzuaddiert habe. Hatte ich den Eiweißgehalt nicht bestimmt, wie bei Tier IV, so berechnete ich ihn aus der Refraktionskonstante (nach Reiß[2]) und korrigierte dementsprechend. Die spez. Leitfähigkeiten, die wir mit K_{20}, K_{38} und K'_{20} bezeichnen wollen, wurden außerdem noch zu folgenden Berechnungen verwendet.

---

[1]) Bugarszky und Tangl, Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 531.

[2]) S. Koranyi-Richter, Physikal. Chem. u. Med. 1907.

1. Berechnung des Temperaturkoeffizienten der Leitfähigkeit. Wir bezeichnen ihn mit C^{20-38}; dieser ergibt sich entsprechend

$$C_{t_1-t_2} = \frac{1}{K_{18}}\left(\frac{dk}{dt}\right)_{t_1-t_2}\text{[1]}$$

zu

$$C_{20-38} = \frac{1}{K_{18}} \; \frac{K_{38}-K_{20}}{18}$$

wo

$$K_{18} = K_{20} - 2\cdot\frac{dk}{dt} = K_{20} - 2\frac{K_{38}-K_{20}}{18}$$

gesetzt werden kann.

2. a) Berechnung des Verhältnisses von NaCl zu Na_2CO_3 aus der Leitfähigkeit des verdünnten und unverdünnten Serums nach Wassmuth[2]). Bezüglich der Grundlagen dieser, und der nächstfolgenden Berechnung verweise ich auf die Originalarbeit. Es sei das Verhältnis von Gehalt an NaCl und Na_2CO_3 in Grammäquivalenten $\frac{m}{m'}$, so ist nach Wassmuth angenähert

$$(1)\quad \frac{m}{m'} = \frac{\frac{K_{18}}{K'_{18}} - 0{,}52}{0{,}02}\cdot\frac{1}{2},$$

wo K_{18} und K'_{18} die Leitfähigkeit des Serums einmal unverdünnt, sodann doppelt verdünnt sind.

b) Man kann die Berechnung der Summe des Äquivalentgehaltes an NaCl und Na_2CO_3 nach Wassmuth berechnen aus der Beziehung

$$(2)\quad \begin{cases} m + m' = 10^3\cdot K_{18}\cdot Q \\ \text{wo } Q = \dfrac{2\frac{1}{3}\cdot 2\cdot\frac{K'_{18}}{K_{18}} - 1}{2\frac{1}{3} - 1} \text{ ist.}\end{cases}$$

Aus Beziehung (1) und (2) läßt sich leicht m und m' berechnen. Setzen wir zur Abkürzung $\frac{m}{m'} = a$, $m + m' = b$, so ist

$$m = \frac{ab}{1+a}, \quad\text{und}\quad m' = \frac{b}{1+a}\text{[3]}).$$

[1]) Kohlrausch und Holborn, Leitfähigkeit der Elektrolyte. S. 118.

[2]) Wassmuth, Zur Analyse des Blutserums durch Messen der Leitfähigkeit desselben in unverdünntem und verdünntem Zustande. Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. Wien. 604, Abt. III, Febr. 1905.

[3]) Die genauere Methode von Wassmuth zur Berechnung von m und m' konnten wir nicht anwenden, weil wir keinen unsrer Werte in seiner etwas engen Tabelle fanden.

Diese Werte für m und m' gelten, natürlich nur so weit (1) gilt, also in grober Annäherung.

Endlich wurde noch die Konzentration der H-Ionen gemessen, ich bediente mich dabei der Farkasschen Gaselektrode in ihrer von Szili modifizierten Form. Die Spannung wurde mit der Kompensationsmethode gemessen.

Ergebnisse.

I. Eiweißgehalt und Eigenschaften, die durch denselben bestimmt werden. Der Eiweißgehalt des Serums vermindert sich während des Hungerns (s. Tab. I).

Burckhardt[1]) fand nach 5 bis 6 Hungertagen eine Veränderung von 6 bis 14°/₀; doch wurden seine Versuche angezweifelt. Ähnliches ergaben die Versuche von Miescher[2]) an Lachsen. a) Ich fand in Versuch 3, 5 und 6 eine Verminderung des N-Gehaltes um 4 bis 16°/₀ des Nüchternwertes. Die Verminderung ist zu groß, um durch eine Verminderung nicht eiweißartiger N-haltiger Verbindungen verursacht zu werden, selbst völliges Schwinden derselben wäre weitaus nicht ausreichend dazu. b) Dem Ergebnisse a) entsprechend verminderte sich der Trockengehalt des Serums in Versuch 3, 5, 6 und 8 um 3 bis 20°/₀. c) Den Ergebnissen a und b entsprechend verminderte sich der Brechungsindex in Versuch 3, 5, 6 und 8. Der Betrag der Änderung ist 0,00060 bis 0,00200, entspricht also nach Reiß, durch 0,00170 dividiert, 0,28 bis 1,14°/₀ Eiweiß, also einer Verminderung des Eiweißgehaltes um etwa 3 bis 14°/₀ seines Betrages. d) Den Ergebnissen a, b und c entsprechend fanden wir die Oberflächenspannung des Serums nach dem Hungern in Versuch 3, 5 und 6 erhöht. Eiweiß erniedrigt nämlich die Oberflächenspannung in hohem Maße, Änderungen des Salzgehaltes sind hingegen von geringem Einfluß. Die Verminderung der Differenz zwischen der Spannung des Serums und des reinen Wassers betrug 30 bis 50°/₀. e) Den Ergebnissen a, b, c und d entsprechend fand ich eine Verminderung der Viscosität in den Versuchen 3, 5 und 6. Eiweiß erhöht nämlich die Visco-

[1]) Burckhardt, Zeitschr. f. exp. Pathol., ref. in Erg. d. Phys. 1, I. Abt., S. 102.

[2]) Miescher, Histogenetische und physiologische Arbeiten 2, 116, 1897, ref. in Erg. d. Phys. 1, I. Abt., S. 102.

sität im hohen Maße, Kristalloide in geringer Konzentration beeinflussen dieselbe kaum merkbar. Wir können daher auch den Unterschied zwischen der Viscosität von Wasser und Serum dem Eiweißgehalt annähernd proportional setzen: dementsprechend betrug auch die Verminderung dieser Differenz 9 bis 12°/₀. Den Einfluß des Hungerns auf die Viscosität des Serums hat vor uns Tria untersucht. Er ließ 15 Hunde 4 bis 24 Tage hungern und fand in 12 Fällen eine geringe Zunahme der Viscosität des Serums, in 3 Fällen eine geringe Verminderung. Das übereinstimmende Verhalten des N-Gehaltes, des Trockengehaltes, des Brechungsindex und der Oberflächenspannung läßt mich nicht daran zweifeln, daß die Viscosität des Serums während des Hungerns abnehmen muß. Daß Tria in der Mehrzahl der Fälle Gegenteiliges fand, müssen wir der etwas mangelhaften Einrichtung seiner Versuche zuschreiben: denn 1. stehen seine Normaldaten unter dem Einfluß der Zufälligkeiten der Ernährung, denn er hat seine Tiere vor den Versuchen nicht hungern lassen, sondern ungewöhnlich stark genährt; 2. ließ er den Einfluß der Blutverluste unberücksichtigt — wie groß relativ diese waren, ist unbekannt, denn die Tiere wurden nicht gewogen — und setzte gleich nach der Blutentnahme mit dem Hungern ein; 3. hat er das Serum nur dann zentrifugiert, wenn es ihm trübe erschien, was im Hundeblut[1]) und besonders bei Viscositätsmessungen leicht Fehler verursachen kann. f) Endlich sei erwähnt, daß in Versuch 8 nach dem Hungern dem verminderten Eiweißgehalt entsprechend das spezifische Gewicht kleiner war als im Normalzustande.

II. Elektrolytgehalt und Eigenschaften, die durch denselben bestimmt werden. Der Elektrolytgehalt des Serums nimmt während des Hungerns zu (s. Tab. II). Über diese Frage liegen indirekte Messungen verschiedener Autoren vor, ich befasse mich mit ihnen an entsprechendem Orte, vor allem will ich über die Ergebnisse der direkten chemischen Analyse berichten. a) Der Gesamtgehalt an Asche nahm in den Versuchen 3, 5 und 6 um 1 bis 20°/₀ zu. Die Menge nicht wasserlöslicher Asche blieb dabei konstant, die wasserlösliche nahm um 3 bis 20°/₀ zu. b) Der Chloridgehalt nahm in Versuch 3 und 6

---

[1]) Hundeblut sedimentiert sehr schwer.

Tabelle I.

Bezeichnung des Versuchs	Hund I	Hund II		Hund III			Hund IV		
	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5	Versuch 6	Versuch 7	Versuch 8	Versuch 9
	24 St. nach der letzten Futter- und 6 St. nach der letzten Wasseraufnahme. Nüchternwerte (Abgebroch. Versuch)	24 St. nach der letzten Futter- und 6 St. nach der letzten Wasseraufnahme. Nüchternwerte	nach 6 Tage Füttern und 14 Tage Hungern. Hungerwerte	24 St. nach der letzten Futter- und 6 St. nach der letzten Wasseraufnahme. Nüchternwerte	nach 6 Tage Füttern und 14 Tage Hungern. 1. Hungerwerte	nach weiteren 14 Tage Füttern und 21 Tage Hungern. 2. Hungerwerte	24 St. nach der letzten Futter- und 6 St. nach der letzten Wasseraufnahme. Nüchternwerte	nach 6 Tage Füttern und 14 Tage Hungern. Wassertrinken gestattet; getrunkene Menge Wassers: 365 ccm. Hungerwerte	Nach 14 Tage Füttern. Regenerationswerte
Gewicht des Hundes	36,2 kg	25 kg	16 kg	35 kg	26 kg	21 kg	13 kg	9 kg	11 kg
Entnommene Menge des Blutes	260 ccm	220 ccm	290 ccm	290 ccm	400 ccm	500 ccm	58 ccm	80 ccm	100 ccm
Abgegebene Serummenge	60 ccm	60 ccm	90 ccm	90 ccm	80 ccm	200 ccm	—	—	—
Eiweiß	7,20 %	8,62 %	7,10 %	9,20 %	8,72 %	7,50 %	—	—	—
Trockensubstanz	9,42 %	11,084 %	9,060 %	11,25 %	10,232 %	9,97 %	9,492 %	8,492 %	8,195 %
Brechungsindex	1,35018	1,35000	1,34940	1,35222	1,35120	1,35018	1,34986	1,34772	1,34700
Oberflächenspannung in $\frac{dyn}{cm}$	6,56	6,103	6,683	6,078	6,521	6,841	6,208	—	—
Viscosität 38° C	1,729	1,780	1,712	2,005	1,897	1,819	—	—	—
Spez. Gewicht	—	1,0209	—	1,0299	—	1,0192	—	—	—

um 7,9 % und 4 % des ursprünglichen Gehaltes zu, in Versuch 5 war er innerhalb der Versuchsfehler konstant (Zunahme 0,25 %). c) Die Leitfähigkeiten im verdünnten und unverdünnten Serum wurden, wie ich oben ausgeführt habe, zur angenäherten Berechnung des Äquivalentgehaltes an NaCl und Na_2CO_3 nach Wassmuth benutzt. Den Ergebnissen a und b gemäß nahm das so berechnete NaCl zu, und zwar in Versuch 1 und 3 um je 20 und 22 %, in Versuch 2 war es innerhalb der Fehlergrenze konstant (Abnahme 3 %). Die berechnete Menge Na_2CO_3 zeigte einen unregelmäßigen Verlauf. d) Den Ergebnissen der Analyse a und b entsprechend nahmen die Leitfähigkeiten K_{20}, K_{38} und K^1_{20} in allen Versuchen zu. Näheres soll hier nur über die Änderung der Leitfähigkeit in unverdünntem Serum gesagt werden: die Änderung war bei 20 und 30° C wenig verschieden, sie

Tabelle II.

Bezeichnung des Versuchs	Hund I	Hund II		Hund III			Hund IV		
	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5	Versuch 6	Versuch 7	Versuch 8	Versuch 9
	Nüchternwerte	Nüchternwerte	Hungerwerte	Nüchternwerte	1. Hungerwerte	2. Hungerwerte	Nüchternwerte	Hungerwerte	Regenerationswerte
Gefrierpunktserniedrigung . .	0,580° C	0,550° C	0,600° C	0,607° C	0,640° C	0,720° C	0,564° C	0,620° C	0,565° C
Leitfähigkeit bei . . . 20° C	0,01307	0,01363	0,01519	0,01438	0,01459	0,01504	0,01256	0,01330	0,01341
„ „ . . . 38° C	0,01877	0,02016	0,02144	0,02021	0,02039	0,02133	—	—	—
„ verdünnt 20° C	0,00684	0,00757	0,00825	0,00752	0,00770	0,00795	—	—	—
Gesamtasche	1,130 %	1,120 %	1,320 %	1,054 %	1,110 %	1,121 %	—	—	—
Wasserlösliche Asche	1,060 „	1,000 „	1,200 „	0,954 „	1,010 „	0,981 „	—	—	—
Wasserunlösliche Asche . . .	1,070 „	0,120 „	0,120 „	0,100 „	0,100 „	0,130 „	—	—	—
NaCl	0,702 „	0,752 „	0,812 „	0,778 „	0,780 „	0,812 „	—	—	—
NaCl berechnet	0,737 „	0,557 „	0,661 „	0,812 „	0,783 „	0,991 „	—	—	—
Na_2CO_3 berechnet	0,10 „	0,86 „	0,66 „	0,10 „	0,36 „	0,38 „	—	—	—
C_{20-38}	0,0247	0,0271	0,0238	0,0230	0,0225	0,0237	—	—	—

schwankte zwischen 2,8 bis 12 % des ursprünglichen Wertes. Die Änderung der Leitfähigkeit hat Tria[1]) in seiner bereits erwähnten Arbeit untersucht. In 12 Fällen unter 15 fand er ein kleines Anwachsen der Leitfähigkeit (1,3 bis 6,5 %), in drei Fällen ein Sinken ihres Wertes. Die Abweichungen von unseren Ergebnissen sind also ähnlicher wie bei den Messungen der Viscosität und entsprechen wie dort dem Bilde einer Versuchsanordnung, die störende, vielleicht gegeneinander wirkende Einflüsse zuließ. Ähnliches findet sich bei den kryoskopischen Messungen Trias; hier sei nur noch bemerkt, daß es wegen der Bugarszky-Tanglschen Korrektion nicht zulässig erscheint, Messungen der Leitfähigkeit zu machen, ohne den Eiweißgehalt mitzubestimmen. e) Die Änderung des osmotischen Druckes scheinen zwar nur teilweise, aber doch größtenteils durch die unter a, b, c und d verzeichneten Veränderungen beherrscht zu sein. Diesbezügliche Versuche haben vor uns Fano und Bottazzi[2]) gemacht und, wie erwähnt, neuerdings Tria. Bei Fano und Bottazzi stieg der osmotische Druck (bei Hunden) während eines Hungerns von etwa 20 Tagen dreimal um einige Prozente; in einem Falle fanden sie ein geringes Sinken, doch war hier die Karenzzeit besonders lang (61 Tage), es bezog sich diese Messung also auf ein ganz anderes Stadium des Hungerns als die übrigen. Trias Ergebnisse sind auch hier unbestimmt: er findet kleine Änderungen, in 7 Fällen ein Ansteigen, in 3 ein Abfallen des osmotischen Druckes. Im Gegensatz dazu fanden wir, ähnlich wie Fano und Bottazzi, durchwegs den osmotischen Druck nach dem Hungern erhöht: die Erhöhung betrug in 4 Versuchen 1,4 bis 10 %.

Es wurde schon angedeutet, daß der osmotische Druck stärker wächst als die Leitfähigkeit. Dieses Verhalten deutet darauf, daß nicht nur die Molekülzahl der Elektrolyte, sondern auch jene der Nichtelektrolyte anwächst. Eine Übersicht über die Änderung des Elektrolytgehaltes und der durch denselben

[1]) Tria, Proprieta chimico fisiche del sangue durante la inanizione. Arch. d. Farm. sper. e scienze affini. 8, 1909. Korányi und Richter, Phys. Chem. u. Med. 1, 504.

[2]) Fano und Bottazzi, Über den osmotischen Druck des Blutserums und der Lymphe unter verschiedenen Bedingungen des Organismus. Laboratoire de Physiol. de Florence. Résumé des Travaux, Turin 1896, ref. in Jahresb. d. Tierch. 27, 174.

bestimmten Eigenschaften gibt folgende Tabelle; die Zahlen geben die Änderung in Prozenten des Originalgehaltes an.

Tabelle IIa.

Nummer des Versuchs	Zunahme				
	des Aschegehaltes	des Chlorgehaltes	des Chlorgehaltes berechnet	der elektr. Leitfähigkeit (K 20°)	des osmotischen Druckes
1	9 %	7,9 %	20 %	6,4 %	9,1 %
2	5,3 „	0,25 „	−3 „	1,9 „	5,4 „
3	1 „	4,1 „	22 „	4,6 „	8,0 „
4	—	—	—	8,6 „	10,1 „

Bevor wir diese Gruppe der Eigenschaften des Serums verlassen, möge noch eine Bemerkung über den Temperaturkoeffizienten der Leitfähigkeit (C_{20-38}) eingefügt werden. Dieser Koeffizient zeigt keine regelmäßigen Änderungen während des Hungerns (2 Abnahmen, 1 Zunahme). Auch sind Änderungen dieser Größe schwer zu deuten, da wenig über ihre bestimmenden Ursachen bekannt ist und mehrere Erklärungsmöglichkeiten naheliegen. Immerhin mögen, bis nähere Untersuchungen gemacht werden, die Daten der Tabelle zur Orientierung dienen, sie schließen sich an die Messungen von Bugarszky und Tangl[1]) an, die bei 20° gemacht wurden.

III. Der Fettgehalt des Serums während des Hungerns zeigt keine regelmäßigen Änderungen.

Tabelle III.

Bezeichnung des Versuchs	Hund I	Hund II		Hund III		
	Vers. 1	Vers. 2	Vers. 3	Vers. 4	Vers. 5	Vers. 6
	Abgebroch. Versuch. Nüchternwerte	Nüchternwerte	Hungerwerte	Nüchternwerte	1. Hungerwerte	2. Hungerwerte
Soxhlet-Fett (S)	0,100 %	0,088 %	0,112 %	0,172 %	0,100 %	0,206 %
Liebermann-Székely-Fett (L)	0,55 %	0,600 %	0,756 %	0,536 %	0,500 %	0,82 %
Quotient der beiden $\left(\frac{L}{S}\right)$ . .	5,5	6,8	6,8	3,1	5,0	3,9
Cholesterin + Lecithin	0,19 %	0,24 %	0,22 %	0,26 %	0,28 %	0,26 %

[1]) Bugarszky und Tangl, l. c., sie fanden C = 0,022 bei 20°.

a) Daß die Konzentration der ätherextrahierbaren Stoffe sich in keiner einheitlichen Weise ändert, fanden übereinstimmend Schulz[1]), Daddi[2]), sowie Mansfeld, Verzár, Hamburger[3]). Dasselbe zeigte sich auch bei mir. (Sie nahm einmal zu, einmal ab, einmal blieb sie unverändert.) b) Daß die durch die Liebermann-Székelysche Methode bestimmte (gesamte) Fettmenge sich ähnlicherweise verhält, wie dies Mansfeld, Verzár, Hamburger fanden, können wir ebenfalls bestätigen. Der Gehalt an Soxhlet und Liebermann-Fett hatte einen parallelen Verlauf. c) Dementsprechend konnten wir auch kein Abfallen des Quotienten der beiden Fettmengen konstatieren. Wir fanden also kein „Freiwerden" des „gebundenen" Fettes, wie Mansfeld, Verzár, Hamburger. Der Quotient selbst nahm Werte zwischen 6,8 und 3,1 an.

Anschließend an das hier Berichtete sei kurz auf die Unsicherheit der genannten Methoden, die zur Fettbestimmung im Serum dienen, hingewiesen. Insbesondere können nach Kumagawa und Suto[4]) bei der Liebermann - Székelyschen Methode unter Benützung von Gummistöpseln große Fehler entstehen. Für die abweichenden Resultate der Mansfeldschen Versuche dürfte auch der Umstand verantwortlich gemacht werden, daß bei den ersten Probenahmen bereits ein relativ sehr großer Teil des Blutes dem Tier entnommen wurde.

d) Es sei bemerkt, daß der Gehalt an Cholesterin und Lecithin durchwegs konstant war.

IV. Die Konzentration der H-Ionen im Serum steigt während des Hungerns.

Wir fanden dies in den beiden Versuchen 3 und 5; in Vers. 6 blieb diese Konzentration konstant. Unsere Ergebnisse bestätigen hier die Untersuchungen von London[5]), der fand,

---

[1]) Schulz, Über den Fettgehalt des Blutes beim Hunger. Arch. f. d. ges. Physiol. 65, 299 bis 307.

[2]) Daddi, Über die Veränderung des Gewichtes des Hettnerextraktes bei langandauerndem Hungern. Lo Sperimentale 52, 1, 1898. Jahrb. d. Tierch. 28, 157.

[3]) Mansfeld, Verzár, Hamburger, Studien über die Physiol. und Pathol. der Fettwanderung. Arch. f. d. ges. Psysiol. 129, 46.

[4]) Kumagawa und Suto. Quantitative Bestimmungen von Fett und verseifbaren Substanzen. Bioch. Zeitschr. 8, 212.

[5]) London, Notiz zur Frage von der Veränderung der Menge und Alkalescenz des Blutes im Hunger. Arch. des Sciences biolog. 4, 523—537. Ref. im Jahrb. d. Tierch. 26, 215.

daß das titrierbare Alkali im Durchschnitte aus 5 Fällen beim Hungern abnahm. Ähnliches beobachtete Wesselkin[1]) während des Salzhungerns.

Tabelle IV.

Bezeichnung des Versuchs	Hund II		Hund III		
	Versuch 2 Nüchternwert	Versuch 3 Hungerwert	Versuch 4 Nüchternwert	Versuch 5 1. Hungerwert	Versuch 6 2. Hungerwert
Konzentration der H-Ionen	$1{,}0 \cdot 10^{-7}$	$3{,}2 \cdot 10^{-7}$	$1{,}1 \cdot 10^{-7}$	$1{,}9 \cdot 10^{-7}$	$2{,}05 \cdot 10^{-7}$

Bevor ich auf die Besprechung dieser Ergebnisse übergehe, soll noch der erwähnte Regenerationsversuch kurz überblickt werden. Nach dem 8. Versuch wurde nämlich das Tier 2 Wochen genährt, es erlangte aber während dessen sein ursprüngliches Gewicht nicht ganz zurück. Der Trockenrückstand und der Brechungsindex nahmen während dieser Periode ab. Die Leitfähigkeit blieb unverändert, wie nach dem Hungern. Die Gefrierpunktserniedrigung allein zeigte einen rückgängigen Verlauf, es stellte sich ihr normaler Wert wieder her. Diese Werte sind in den entsprechenden Tabellen in der letzten Kolumne zu finden.

Meine Ergebnisse stehen nirgends im starren Gegensatz zu den Resultaten anderer Autoren; indem sie über die älteren Messungen nicht hinausgehen, bestätigen sie dieselben vielfach.

Sicher ist, daß während des Hungerns im Serum der Eiweißgehalt fällt, der Elektrolytgehalt steigt. Ersteres wird durch einen Verbrauch des Serumeiweißes während des Hungerns ungezwungen erklärt. Tatsächlich wurde ein Prozeß dieser Art schon öfter angenommen, ohne daß aber die Frage nach der Möglichkeit derselben entschieden wäre. — Für die Zunahme des Elektrolytgehaltes ließe sich die ebenfalls naheliegende Erklärung geben, daß sie vom Wassermangel beim Hungern stamme. So erklärten ihre Versuche auch Fano und Bottazzi. Wassermangel an sich verursacht wirklich Erhöhung

[1]) Wesselkin, Über mineralischen Hunger. Ref. im Biol. Centralblatt 3, 276.

des osmotischen Druckes[1]). Doch steht es dieser Erklärung im Wege, 1. daß ich die bewußte Änderung auch in Vers. 4 fand, in dem das Tier Wasser trinken konnte, 2. daß im Hunger durch den Harn große Mengen Wasser abgegeben werden. Der Grund davon ist in der Wasserproduktion durch Zersetzung der Gewebe zu suchen. Es werden tatsächlich die meisten Organe wasserreicher während des Hungerns[2]). Das Blut nimmt also Wasser aus den Geweben auf, tatsächlich fällt das spezifische Gewicht des Blutes stark ab, wenn man während des Hungerns die Ureteren unterbindet[3]). Wir sehen also, daß eine Erklärung der Steigerung der Elektrolytkonzentration allein durch den Wassermangel nicht zulässig ist. Immerhin ist wohl die Ursache in einem Überwiegen der Wasserabgabe über die Wasseraufnahme im Blute zu suchen, da die Gesamtmenge des Blutes beim Hungern abnimmt[4]).

Zusammenfassung.

Der Hauptsache nach läßt sich folgendes feststellen:

I. Der Eiweißgehalt des Serums sinkt beim Hungern, dementsprechend sinkt der Trockengehalt, der Brechungsindex, die Viscosität, das spezifische Gewicht und steigt die Oberflächenspannung.

II. Der Aschegehalt des Serums steigt beim Hungern. Demgemäß steigt der Cl-Gehalt direkt und indirekt bestimmt, die Leitfähigkeit, bei 20° und 38° gemessen, und der osmotische Druck (nicht proportional).

III. Der Fettgehalt, in verschiedener Weise bestimmt, zeigt kein einheitliches Verhalten.

IV. Die Konzentration der H-Ionen steigt.

Die Versuche wurden auf Anregung und unter Leitung des Herrn Professor F. Tangl durchgeführt.

---

[1]) Mayer, Variation de la tension osmotique du sang chez les animaux privés de liquides. Compt. rend. 52, 153—155.

[2]) S. Weber, Über Hungerstoffwechsel. Erg. d. Phys. 1, 1. Abt., S. 102.

[3]) Popel, Das spez. Gew. des Blutes bei der einfachen und der mit Ureterunterbildung komplizierten Inanition. Arch. des Sciences biol. 4, 354. Ref. in Jahrb. d. Tierch. 26, 238.

[4]) London l. c.

Beitrag zur Chemie der Hydrocephalusflüssigkeit.

Von

Michael Polányi.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und physiol. Chemie der Universität Budapest. Direktor: Franz Tangl.)

(Eingegangen am 27. April 1911.)

Die chemische Zusammensetzung der Hydrocephalusflüssigkeit wurde noch selten untersucht; es sind insbesondere die physikalisch-chemischen Eigenschaften derselben noch kaum bekannt. Dies veranlaßte die nachfolgenden Untersuchungen.

Hydrocephalusflüssigkeit habe ich in 4 Fällen untersucht.

Fall 1. ist ein 1 jähriges Kind. Seit der Geburt Hydrocephalus chronicus internus et externus. Mors suffocatoria. Gesamtmenge der Flüssigkeit etwa 2 Liter. Umfang des Kopfes 53 cm, Länge des Körpers 49,5 cm, Gewicht 5550 g.

Fall 2. ist ein neugeborenes Mädchen. Hydrocephalus congenitus. Umfang des Kopfes 39 cm. Länge des Körpers 68 cm. Gewicht 3400 g.

Fall 3. ist ein 85 jähriger Mann. Gehirnschwindsucht und Hydrocephalus. Gestorben an Carcinoma buccae mit Erysipelas.

Fall 4. ist ein neugeborener Knabe. Hydrocephalus congenitus. Umfang des Kopfes 36,5 cm, Länge 49,5 cm, Gewicht 3400 g.

Alle vier Hydrocephalusflüssigkeiten verdanke ich der Gefälligkeit des Herrn Dr. Géza v. Entz, Assistent am I. Path.-anat. Inst., der dieselben der Leiche entnommen hat.

Von den physikalischen Eigenschaften der Flüssigkeiten bestimmte ich: das spez. Gewicht mittels eines Pyknometers, den Gefrierpunkt mittels eines Präzisionskryoskopes mit Berücksich-

tigung der Konvergenztemperatur und der Korrection für das ausgefrorene Eis. Die Leitfähigkeit habe ich mit der Telephonmethode nach Kohlrausch in einem Thermostat bei 20° C gemessen. Die Werte sind in Ohm $^{-1} \times$ cm^{-1} ausgedrückt. Das Brechungsvermögen habe ich bei Zimmertemperatur mit einem Pulfrichschen Refraktometer festgestellt, die Viscosität bei 38° C im Ostwaldschen Viscosimeter. Die Werte der Tabelle beziehen sich auf Wasser als Einheit bei 38° C. Die Oberflächenspannung habe ich mit Traubes Stalagmometer bestimmt; die Zahlen bedeuten $\frac{\text{dyn}}{\text{cm}}$.

Nummer d. Falles	1	2	3	4
Menge der Flüssigkeit	150 ccm	150 ccm	20 ccm	100 ccm
Durchsichtigkeit	trübe	etwas trübe	durchsichtig	trübe
Farbe	gelblich	farblos	farblos	gelblich
Spez. Gewicht .	1,012 15° C	1,007 15° C	1,005 20° C	1,003 20° C
Gefrierpunktserniedrigung Δ =	0,566° C	0,570° C	0,678° C	0,583° C
Leitfähigkeit bei 20° C in $\frac{1}{\text{Ohm} \times \text{cm}}$	0,01136	0,01280	0,01527	0,01452
H-Ionen-Konzentration	$9{,}084 \times 10^{-11}$			
Brechungsindex (N_D)	1,3499 (23 °C)	1,33516 (21 °C)	1,33579 (20,3 °C)	1,33554 (20 °C)
Viscosität 38° C; Wasser = 1 . .	1,020	1,027	1,027	1,021
Oberflächenspannung 20° C $\frac{\text{dyn}}{\text{cm}}$	7,35	7,15	7,16	7,20
Trockenrückstand	1,145 %	1,585 %	1,670 %	1,550 %
Eiweiß	0,175 %	0,461 %	0,651 %	0,469 %
Soxhlet-Fett . .	0,003 %	0,037 %		
Liebermann-Székely-Fett . . .		0,030 %		
Cholesterin bzw. nicht verseifbares Ätherextrakt .		0,030 %		
Gesamtasche . .	0,919 %	1,001 %	0,950 %	1,002 %
Wasserlösl. Asche	0,807 %	0,958 %	0,905 %	0,992 %
Nicht wasserlösliche Asche . .	0,112 %	0,050 %	0,045 %	0,020 %
NaCl	0,778 %	0,722 %	0,903 %	0,670 %

Von den chemischen Bestimmungen habe ich den N nach Kjeldahl bestimmt; N $\times$ 6,25 = Eiweißgehalt. Durch Extraktion des Trockenrückstandes während 48 Stunden habe ich das Fett bestimmt; in einem Falle habe ich die Liebermannsche

Verseifungsmethode zur Bestimmung des gebundenen Fettes benützt. Letzteres Verfahren ergab auch den Gehalt an verseifbaren Lipoiden und Cholesterin. Nach sorgfältiger Veraschung des Trockenrückstandes und wässriger Extraktion der Asche habe ich in derselben das Cl nach Volhard titriert. Die Konzentration des H˙-Ionen wurde mittels der Farkas-Szilischen Elektroden nach der Kompensationsmethode gemessen.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen enthält die obenstehende Tabelle.

Die Hydrocephalusflüssigkeit wurde von Toison und Lenoble[1]) sowie von J. H. Coriat[2]) durchsichtig gefunden, Panzer[3]) fand sie einmal gelb und etwas trüb, ein anderes Mal durchsichtig und etwas blutig; in drei Fällen waren unsere Flüssigkeiten trüb, in einem Falle durchsichtig. Nach den Daten, die in der Literatur für den Eiweißgehalt der Hydrocephalusflüssigkeit angegeben sind, schwankt dieser um 0,15 % herum und zwar in weiten Grenzen. Es fand Frenkel-Heiden[4]) 0,1469 % und 0,2675 %; L. Concetti[5]) in einem Falle 0,020 % und 0,25 % in einem zweiten Falle erst Spuren, dann 0,15 %. Toison und Lenoble[6]) bestimmten die Menge der organischen Substanzen in einem Falle zu 0,165 %, 0,240 %, in einem zweiten Falle zu 0,130 und 0,70 %. Andererseits fand C. Schmidt[7]) 0,374 %, 0,349 %, und 1,135 % als Summe der extrahierbaren Stoffe und der Eiweißstoffe. Im ersten Falle von Panzer[8]) war der Trockenrückstand 1,596 % und die organischen

---

[1]) L. Toison et Lenoble, Note sur la structure et sur la composition du liquide céphalo-rachidien chez l'homme. Compt. rend. de la Soc. biol. 43, 373 bis 379.

[2]) J. H. Coriat, Cerebrospinalflüssigkeit bei Hydrocephalus. Amer. Journ. of Physiol. 10, 212 bis 215. Ref. im Jahresb. d. Tierch. 34, 562.

[3]) Panzer, Wiener klin. Wochenschr. 1899. 805. Ref. in Erg. d. Physiol. 1, I. Abt., S. 286. F. Blumenthal, Über Cerebrospinalflüssigkeit.

[4]) Frenkel-Heiden, Zur Chemie der Cerebrospinalflüssigkeit. Bioch. Zeitschr. 2, 188 bis 189.

[5]) L. Concetti, Chemische Untersuchungen über die Hydrocephalusflüssigkeit von Kindern. Arch. f. Kinderheilk. Fasc. 2. 3. 24, 161 bis 172. Ref. im Jahresb. d. Tierch. 28, 401.

[6]) Toison und Lenoble, l. c.

[7]) Cit. nach S. Bottazzi, Physiol. Chem. 2, 175 bis 176.

[8]) S. Panzer, l. c.

Bestandteile 0,733 %, im zweiten Falle war der Trockenrückstand 1,38 % und die Menge der organischen Substanzen 0,422 %.

Der Aschen- und Chloridgehalt der Hydrocephalusflüssigkeit wurde ebenfalls öfters untersucht; die Ergebnisse sind auch hier schwankende. Nach Toison und Lenoble[1]) war die Asche im ersten angeführten Falle 0,850 % und 0,830 %, im zweiten Falle 0,880 % und 0,875 %. In denselben Fällen wurde 0,684 % und 0,672 % NaCl gefunden. Panzer[2]) fand in seinen beiden Fällen, daß der Gehalt an anorganischen Substanzen 0,863 % und 0,958 % war. Außerdem fand Lassaigne[3]) als Summe von NaCl und KCl 0,801 %, Halliburton[3]) 0,899 % NaCl und 0,028 % KCl; Hilger[3]) 0,397 % NaCl und 0,082 % KCl; Barnel[3]) 0,5 % NaCl. O. Schmidt[3]) fand 0,948 %, 0,892 % und 0,788 % anorganische Salze, Cavazzani[4]) in einem Falle 0,4479 % NaCl.

In den von mir untersuchten Fällen überstieg der Eiweißgehalt nur wenig die soeben angeführten Werte; auch der Aschen- und Chlorgehalt war höher als in den meisten angeführten Fällen.

Der Gehalt an Trockenrückstand war also wahrscheinlich bei uns auch größer. Die Abweichung ist aber so gering, daß wir derselben keine Bedeutung zuschreiben können, um so weniger, als der Unterschied zwischen den angeführten Daten selbst noch größer ist. Es wäre zu bedenken, ob in unseren Fällen nicht postmortale Veränderungen zu einer Erhöhung der Konzentration führten. Nach Japelli und D'Errico[5]) wird die Lymphe nach dem Tode wirklich konzentrierter und trüb. Wahrscheinlicher ist jedoch, daß die Hydrocephalusflüssigkeit nicht von beständiger Zusammensetzung ist.

Es soll noch hervorgehoben werden, daß ich in jenem Falle, in dem ich den Fettgehalt nach den beiden Methoden (Soxh-

---

[1]) S. Toison und Lenoble, l. c.

[2]) Panzer, l. c.

[3]) Cit. nach S. Bottazzi, a. a. O.

[4]) Cavazzani, Zentralbl. f. Physiol. 1900, 437 bis 476. Ref. in Erg. d. Physiol. 1, I. Abt., S. 287.

[5]) Japelli und d'Errico, Beitr. zur Lymphogenese V. Über die physiko-chemische Beschaffenheit der postmortalen Lymphe. Zeitschr. f. Biol. 50, 1, 1907.

let und Liebermann) bestimmte, die letztere nicht mehr Fett ergeben hat als die erstere. Dies würde nach Mansfeld[1]) darauf hinweisen, daß in der Hydrocephalusflüssigkeit im Gegensatze zum Serum kein „gebundenes“ Fett enthalten sei.

Von den physikalischen Konstanten war das spez. Gewicht in den beiden Fällen von Toison und Lenoble[2]) einmal 1,0070 und 1,0079 ein zweites Mal 1,0076. Concetti[3]) fand in zwei Fällen je 1,005 und 1,010. Unsere Messungen ergaben ähnliche Resultate. Die molekulare Konzentration ist nach Dircksen[4]) größer als jene des Serums. Dies können wir bestätigen. Auffallend ist die starke Hypertonie des 3. Falles, die durch den hohen NaCl-Gehalt verursacht wird. Bei Toison und Lenoble[5]) war die Flüssigkeit mehr oder minder alkalisch, bei Concetti[3]) alkalisch, bei Coriat[6]) schwach sauer. Die Konzentration der $H^{\cdot}$-Ionen, wie sich im 1. Falle ergab, weist auf eine alkalische Reaktion der Flüssigkeit hin. Die übrigen physikalischen Konstanten wurden von Anderen noch nicht gemessen. Doch zeigen sich unsere Ergebnisse hier auf den ersten Blick als durch die chemische Zusammensetzung bedingt. Die Leitfähigkeit steigt und fällt mit dem osmotischen Druck, andererseits wächst die Refraktion mit dem Eiweißgehalt. Der Brechungsindex übersteigt in seinem Minimum die Konstante des Wassers um 0,00200, im Maximum um 0,00288. Die Viscosität übersteigt jene des Wassers dem geringen Eiweißgehalt entsprechend kaum, in ihren kleinen Änderungen folgt sie dem Eiweißgehalt. Ihre oberen und unteren Grenzen sind 1,027 und 1,020. Die Oberflächenspannung ist etwas kleiner als jene des Wassers; sie nimmt mit dem wachsenden Eiweißgehalt ab.

Abgesehen davon, daß obige Angaben zur Charakterisierung der Cerebrospinalflüssigkeit dienen, kann man sie auch zur Frage nach dem strittigen Ursprung der Cerebrospinalflüssigkeit heran-

---

[1]) Mansfeld, Arch. f. d. ges. Physiol. 129, 46.

[2]) Siehe Fußnote 1 S. 208.

[3]) Concetti, l. c.

[4]) M. Dircksen, Über die molekulare Konzentration der Cerebrospinalflüssigkeit. Thèse de Paris. 1901. S. 59. Ref. in Jahresb. der Tierch. 31, 560.

[5]) Toison und Lenoble, l. c.

[6]) Coriat, l. c.

ziehen. Die Frage ist die, ob diese Flüssigkeit Transsudat oder einfach Lymphe sei. Letzteres wurde besonders von K. Schmidt geleugnet. Blumenthal[1]) hebt mit Recht hervor, daß es schwer sei, gegen den lymphatischen Ursprung zu argumentieren, da die offene Verbindung der subarachnoidalen Räume mit den Lymphbahnen erwiesen sei.

Meine Daten sprechen entschieden gegen die Auffassung, daß die Cerebrospinalflüssigkeit ein Transsudat sei. Dem widerspricht erstens der niedere Eiweißgehalt jeder normalen Cerebrospinal- und Hydrocephalusflüssigkeit. Ein so niederer Eiweißgehalt kommt bei Transsudaten nur ausnahmsweise vor. Zweitens widerspricht ihr die hohe molekulare Konzentration, die jene des Serums übersteigt. Eine ähnliche Hypertonie kommt bei Transsudaten nicht vor. Meine Angaben stützen demnach die neuerdings besonders von Lewandowsky[1]) vertretene Auffassung, daß die Cerebrospinalflüssigkeit — Lymphe sei. Über die Frage, ob sie das Produkt des Plexus chorioideus sei, oder von den Blutcapillaren des Gehirnes stamme, wie dies besonders Lewandowsky und Spina[1]) annehmen, geben meine Untersuchungen keinen Aufschluß.

Obige Untersuchungen wurden auf Anregung des Herrn Prof. Dr. F. Tangl und unter seiner Leitung ausgeführt.

---

[1]) Blumenthal, Über Cerebrospinalflüssigkeit. Erg. d. Physiol. 1, I. Abt., S. 286 bis 295.

Untersuchungen über die Gärungsprozesse bei der Verdauung der Wiederkäuer.

Von

I. Markoff.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin.)

(Eingegangen am 18. Mai 1911.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die Gärungen, die die Kohlenhydrate im Organismus der Pflanzenfresser erleiden, setzen bekanntlich den Nährwert derselben beim Wiederkäuer in hohem Maße herab. Nach den Bestimmungen von Kellner gehen durchschnittlich beim Wiederkäuer über 10% der Energie der „verdauten" Kohlenhydrate in Form von Methan verloren, und dieser Verlust ist bei den wertvollen leicht verdaulichen Kohlenhydraten nicht viel geringer als bei der Cellulose. Im Durchschnitt von Kellners Bestimmungen entwickeln:

100 g Stärkemehl 3,17 g CH_4, entsprechend 423 Cal. oder 10,1% ihres Brennwertes,

100 g Rohrzucker = 284 g CH_4 = 379 Cal. = 9,6% ihres Brennwertes,

100 g verdaute Cellulose = 4,46 g CH_4 = 586 Cal. = 14,02% ihres Brennwertes.

Bei den bisher ausgeführten Respirationsversuchen an Wiederkäuern hat man nur in wenigen Fällen die Frage behandelt, ob neben Methan noch andere brennbare Gase, speziell Wasserstoff, entstehen, und bei der Versuchsanordnung von Pettenkofer, die fast ausschließlich bisher bei diesen Untersuchungen benutzt wurde, ist es sehr schwer, den Wasserstoff neben Methan durch die Verbrennungsanalyse zu bestimmen,

da es sich um einen enorm geringen Prozentsatz bei der reichlichen Ventilation des Apparates handelt. Die einzigen Versuche, in der Atemluft des Wiederkäuers Wasserstoff nachzuweisen, haben Armsby und Fries[1]) gemacht, und sie haben in ihren Fällen eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Verbrennungsprodukten Wasser und Kohlensäure gefunden, entsprechend der Oxydationsformel: $CH_4 + O_4 = CO_2 + 2H_2O$, schließen also die Ausscheidung von Wasserstoff aus.

In neuerer Zeit sind bei den im hiesigen Institut ausgeführten Respirationsversuchen an Rindern öfter nicht zu vernachlässigende Wasserstoffmengen durch Tierarzt Klein gefunden worden. Durch diese Befunde gewinnt die Frage an Bedeutung, ob unter irgendwelchen, bei der Ernährung der Wiederkäuer in Betracht kommenden Bedingungen neben Methan noch nennenswerte Mengen anderer brennbarer Gase gebildet werden. Zur Bearbeitung dieser Frage hat mich Herr Prof. Dr. Zuntz aufgefordert, der mich auch vielfach mit seinem Rate bei der Ausführung unterstützte.

Sicherer als durch den Respirationsversuch läßt sich eine entscheidende Antwort auf die vorliegende Frage durch die direkte Untersuchung der Gärungsgase gewinnen. Man entnimmt entweder die Gärgase direkt den betreffenden Abschnitten des Verdauungsapparates der Tiere bei verschiedener Fütterung und analysiert sie, oder man läßt, wie dies Tappeiner und andere schon getan, den Gärungsprozeß in der passend verdünnten, dem Verdauungsapparat entnommenen Substanz außerhalb des Körpers sich fortsetzen, um die hierbei entstehenden Gase zu analysieren. Diese letztere Versuchsanordnung gibt auch die Möglichkeit, die Bedingungen der Gärung zu variieren und zu erkennen, welchen Einfluß verschiedene Zusätze auf den qualitativen und quantitativen Verlauf des Prozesses haben. Diese Untersuchungen erschienen von erheblichem praktischem Interesse, weil sie die Erscheinung der sogenannten „Verdauungsdepression“ und ihre Beseitigung durch eiweißreiche Nährstoffe aufzuklären geeignet sind. Schon vor Jahren hat Tappeiner[2]) darauf aufmerksam gemacht, daß es sich bei der Verdauungs-

[1]) I. A. Fries, U.-St. Bureau of Animal Industry Bullet. 1903, Nr. 51, S. 32.

[2]) Tappeiner, Zeitschr. f. Biol. 20, 120.

depression im wesentlichen darum handeln dürfte, daß die leicht löslichen Kohlenhydrate von den Gärungserregern der Cellulose vorgezogen werden, und daß letztere in um so geringerem Maße gelöst wird, je mehr freie, nicht in Zellmembran eingeschlossene Kohlenhydrate im Futter vorhanden sind. Wenn die Hemmung der Celluloseverdauung durch die leicht löslichen Kohlenhydrate mit Hilfe einer Beigabe von Eiweiß beseitigt wird, beruht dies wahrscheinlich darauf, daß jetzt die absolute Intensität der Gärung infolge der besseren Stickstoffversorgung der Gärungserreger wächst und daher wieder eine ausreichende Menge Cellulose zur Lösung kommt. Diese Anschauung würde aber bedingen, daß die Beseitigung der Verdauungsdepression mit einer Steigerung des absoluten Verlustes an Energie einhergehe. Ein Umstand, der in den bisherigen Untersuchungen keine Berücksichtigung gefunden hat.

Bei meinen aus dem eben geschilderten Gesichtspunkte ausgeführten Untersuchungen bediente ich mich zur Untersuchung der Gase der umstehend abgebildeten Modifikation des von Haldane angegebenen Analysenapparates. Die wesentlichste Neuerung bestand darin, daß der zur Einführung der Gasprobe dienenden Capillare am oberen Ende des Meßrohrs ein Zweighahn *h* angeschmolzen wurde, dessen einer nach unten umgebogener Schenkel in einen unten offenen Glaszylinder von 8 cm Länge und 3 cm Durchmesser sich fortsetzte. Der Zylinder taucht in einen Glasbecher *b* mit 10°/$_0$iger Schwefelsäure (Fig. 2). Zwei isolierte Leitungen *e* verbinden die Pole eines 2 bis 3zelligen Akkumulators mit zwei dicken Platindrähten, deren einer im Zylinder, der andere im Becher *b* sich befindet. Je nach der Schaltung entwickelt sich in dem mit der Gasbürette kommunizierenden Zylinder Sauerstoff oder Wasserstoff, so daß man jederzeit die zur Analyse nötigen Mengen des einen oder des anderen Gases zur Verfügung hat. Da es darauf ankommt, höchste Genauigkeit bei den Versuchen zu erreichen, mußte geprüft werden, ob die elektrolytisch gewonnenen Gase vollkommen rein seien. Dies ist eigentlich niemals der Fall. Der Wasserstoff enthält stets eine minimale Beimengung von Sauerstoff und umgekehrt. Außerdem ist die Volumbestimmung des Sauerstoffs dadurch etwas ungenau, daß ein kleiner Teil desselben als Ozon vorhanden ist. Beide

Fehler ließen sich bei meinen Untersuchungen leicht dadurch eliminieren, daß ich die Gase vor ihrer Verwendung in die

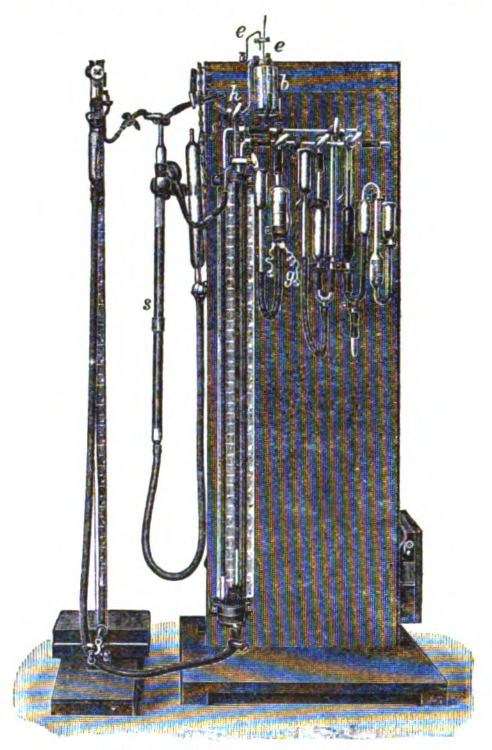


Fig. 1. Analysenapparat.[1])

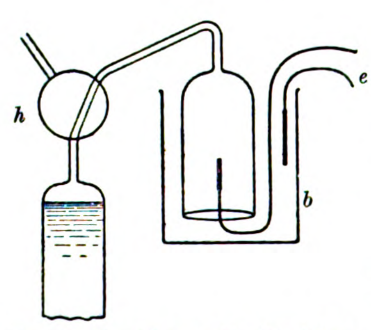


Fig. 2. Vorrichtung für die elektrolytische Entwicklung von Sauerstoff und Wasserstoff.

Glühpipette *g* einführte. Nach höchstens 2 Minuten dauerndem Glühen war stets die Verunreinigung beseitigt und das Gasvolumen erwies sich nun bei wiederholtem Glühen als konstant.

Ich habe auch die Frage geprüft, ob nicht durch Diffusion aus der Luft Spuren von Stickstoff in die elektrolytisch entwickelten Gase gelangen. Dies ist der Fall, wenn die Ent-

[1]) Der Apparat wird von der Firma Bleckmann & Burger, Berlin N 24, Auguststr. 3a, hergestellt.

wicklung langsam erfolgt. Benutzt man dagegen einen Strom von solcher Stärke, daß in der Minute wenigstens 7 ccm Gas entstehen, so erweist sich dasselbe als frei von Stickstoff, d. h. es findet sich in ca. 12 ccm des Gases weniger als 5 cmm unverbrennbaren Restes. Bei Verwendung von nicht ausgekochtem sauren Wasser und langsamer Entwicklung fand ich zuweilen auch Spuren von CO_2 im Gas.

Für die Untersuchung der Pansengase diente mir eine Ziege, deren Pansen in größerer Ausdehnung an eine Wunde der Bauchwand in der linken Hungergrube angenäht worden war. Nach Verheilung der Wunde konnte man jederzeit durch Einstoßen einer mit einem Schlauch armierten Nadel Gas und oft auch Flüssigkeit aus dem Pansen gewinnen. Um jede Beimengung von atmosphärischer Luft zur Gasprobe auszuschließen, war der Schlauch, der die Kanüle mit dem Sammelrohr verband, mit einem seitlichen Ansatz versehen. Zunächst wurden einige Kubikzentimeter Gas durch diesen Seitenweg entnommen, ehe man zur Füllung des eigentlichen Sammelrohrs (siehe *s* in Fig. 1) schritt. Letzteres war bis zum oberen Zweiweghahn mit Quecksilber gefüllt.

Die Art der Analyse und Berechnung ergibt sich aus folgendem Beispiel.

I. Beispiel der ausführlichen Analyse einer Pansengasprobe. (2. II. 1911).

Angewendete Menge der L u f t zum Waschen des Apparates mit Stickstoff . . . . 6,865 ccm
Gasvolumen nach 1. Glühen . . . . . . 6,850 „
„ „ CO_2-Absorption . . . . 6,825 „
„ „ 2. Glühen . . . . . . 6,820 „

Nach Sauerstoffabsorption mit Pyrogallol wird von diesem Stickstoffreste zur Analyse verwendet . . . 2,980 ccm
Stickstoffrest nach Zusatz des Sauerstoffs 13,630 „
N- und O-Menge nach Glühen . . . . . 13,615 „
„ „ „ „ CO_2-Absorption . 13,565 „

(Diese CO_2 stammt zum Teil von dem CO, welches bei der Absorption des O_2 durch Pyrogallol entsteht.)

Nunmehr wird dieses Gas in die Glühpipette übergeführt und in das Meßrohr Pansengas gefüllt.

Angewendete Menge des Pansengases	15,090 ccm
Volumen des Pansengases nach CO_2-Absorption	9,390 „

Jetzt wird bei glühender Platinspirale das Pansengas langsam zum Sauerstoff in die Glühpipette hinübergetrieben.

Gasmischung von O-, N- und Pansengas

nach	1. Verbrennung	13,030 ccm
„	1. CO_2-Absorption	8,300 „
„	2. Verbrennung (Gas 20—30 mal hin und her geführt)	7,715 „
„	2. CO_2-Absorption	7,305 „
„	3. Verbrennung (Gas 16—20 mal hin und her geführt)	7,270 „
„	3. CO_2-Absorption	7,225 „
„	4. Verbrennung (Gas 8—12 mal hin und her geführt)	7,223 „
„	4. CO_2-Absorption	7,203 „
„	Absorption des Sauerstoffs durch Pyrogallol	6,530 „

Berechnung der brennbaren Gase.

Angewendete N- und O-Menge	13,565 ccm	
Pansengasmenge nach Entfernung von CO_2	9,390 „	
Gesamt-Gasvolumen vor Verbrennung	22,955 ccm	
Restgas nach 1. Verbrennung	13,030 ccm	
Contraction	9,925 ccm	(1)
Restgas nach 1. CO_2-Absorption	8,300 ccm	
„ „ 2. Verbrennung	7,715 „	
Contraction	0,585 ccm	(2)
Restgas nach 2. CO_2-Absorption	7,305 ccm	
„ „ 3. Verbrennung	7,270 „	
Contraction	0,035 ccm	(3)
Restgas nach 3. CO_2-Absorption	7,225 ccm	
„ „ 4. Verbrennung	7,223 „	
Contraction	0,002 ccm	(4)
Gesamte Contraction	10,547 „	

1. Berechnung der durch Verbrennung gebildeten CO_2, deren Volum gleich dem des Methan ist.

Volumen der absorb. CO_2 nach 1. Verbrennung	4,730 ccm
„ „ „ „ „ 2. „	0,410 „
„ „ „ „ „ 3. „	0,045 „
„ „ „ „ „ 4. „	0,020 „

Gesamte Menge der Kohlensäure oder des Methans 5,205 ccm = 34,49 % der angewendeten 15,09 ccm Pansengas.

2. Berechnung von Wasserstoff.

Verbrauchte Menge von Sauerstoff zur Verbrennung des Methans: 5,205 × 2 = 10,410 ccm = Contraction durch Methanverbrennung.

Restcontraction entspricht der verbrannten Menge von Wasserstoff und Sauerstoff: 10,547 — 10,410 = 0,137 ccm.

1/3 Contraction entspricht der Sauerstoffmenge = 0,046 ccm
2/3 „ „ „ Wasserstoffmenge = 0,092 „
oder 0,60 %

3. Berechnung der Kohlensäure.

Angewendete Menge des Pansengases . .	15,090 ccm
Restgas nach CO_2-Absorption	9,390 „
Menge der Kohlensäure im Pansengas . .	5,700 „
	oder 37,77 %

4. Berechnung von Stickstoff.

Restgas nach Absorption des Sauerstoffs .	6,530 ccm
Ursprüngliche Menge des Stickstoffs im Apparat	2,980 „
Stickstoffmenge im Pansengas	3,550 ccm
	oder 23,52 %.

5. Eine besondere Analyse zur Bestimmung von Sauerstoff.

Angewendete Menge des Pansengases	15,025 ccm
Restgas nach CO_2-Absorption	9,355 „
„ „ O-Absorption (durch Pyrogallol)	8,720 „
Sauerstoffmenge im Pansengas	0,635 ccm
	oder 4,22 %.

Gesamte Menge der gefundenen Gase in Prozenten:

Kohlensäure . . .	37,77 %
Sauerstoff	4,22 „
Methan	34,49 „
Wasserstoff	0,60 „
Stickstoff	23,52 „
Summa	100,60 %

Berechnung der Korrektur für Stickstoff.

Ursprüngliche Sauerstoffmenge = 4,22 °/₀ der Pansengasprobe von 15,090 ccm	0,636 ccm
Zugesetzte Sauerstoffmenge zur Verbrennung . .	10,585 „
Summa	11,221 ccm
Verbrauchte Sauerstoffmenge zur Verbrennung des CH_4	10,410 ccm
Verbrauchte Sauerstoffmenge zur Verbrennung des Wasserstoffs	0,046 „
Absorbierte Sauerstoffmenge (mit Pyrogallol) .	0,673 „
Summa des Sauerstoffs	11,129 ccm

Die Differenz zwischen ursprünglicher und gefundener Sauerstoffmenge — 0,092 ccm oder 0,60 °/₀ — entspricht der Stickstoffmenge, die bei der langsamen Entwicklung von Sauerstoff während etwa 20 Minuten sich diesem beigemischt hat.

II. **Beispiel einer abgekürzten Analyse der Gase bei Kotgärung, ohne Bestimmung des Restes von Sauerstoff und Stickstoff.** (II. Tab. 7, 4.)

Stickstoffrest mit der zur Analyse nötigen Sauerstoffmenge, nach Entfernung der brennbaren Gase, von Ozon, CO_2 usw. . . . . 11,020 ccm

Angewendete Menge des Gärungsgases . . 18,150 „

Rest des Gärungsgases nach CO_2-Absorption 4,560 „

Das Volumen der Mischung von 11,020 + 4,560 = 15,580 ccm beträgt:

nach	1. Verbrennung . . .	9,477 ccm
„	1. CO_2-Absorption . . .	9,460 „
„	2. Verbrennung	8,878 „
„	2. CO_2-Absorption . . .	8,873 „
„	3. Verbrennung	8,832 „
„	3. CO_2-Absorption . . .	8,830 „
„	4. Verbrennung	8,820 „
„	4. CO_2-Absorption . . .	8,815 „

Gesamte Contraction: 6,103 (1) + 0,582 (2) + 0,041 (3) + 0,010 (4) = 6,736.

Absorbierte Kohlensäuremenge resp. Methan: 0,017 (1) + 0,005 (2) + 0,002 (3) + 0,005 (4) = 0,029 ccm oder 0,15 °/₀.

Verbrauchte Sauerstoffmenge zur Verbrennung des Methans $= 0,029 \times 2 = 0,058$. Restcontraction entspricht der verbrannten Menge von Wasserstoff und Sauerstoff: $6,736 - 0,058 = 6,678$.

$^1/_3$ Contraction entspricht der Sauerstoffmenge $= 2,226$ ccm
$^2/_3$ „ „ „ Wasserstoffmenge $= 4,452$ „
oder $24,52^0/_0$.

CO_2-Menge in der Gasprobe 13,590 ccm, oder $74,87^0/_0$.

Gesamte Menge von CO_2, CH_4, $H = 18,071$ ccm.

Restgas bestehend aus Stickstoff (oder Stickstoff und Sauerstoff) $= 0,079$ ccm oder $0,43^0/_0$.

Summa CO_2, CH_4 H und $N = 99,97^0/_0$.

Die auf diese Weise ausgeführten Analysen sind in Tabelle IA. zusammengestellt. Der in Kolumne 6 angegebene Sauerstoffgehalt des Gasgemisches gibt uns im wesentlichen ein Maß der Verunreinigung des Gases mit atmosphärischer Luft. Diese Luft stammt im allgemeinen nicht aus Fehlern der Probenahme, sondern beruht darauf, daß das Tier teils mit der Nahrung, teils beim Wiederkauen Luft verschluckt. Ein ganz besonders eklatanter Beweis für die Bedeutung dieses Faktors ist der Versuch 14 vom 3. II. Hier hatte das Tier ziemlich kurze Zeit vor der Probenahme reichlich Heu gefressen und bis zum Moment der Probenahme wiedergekaut. Zu den gefundenen $10,62^0/_0$ Sauerstoff gehören in der atmosphärischen Luft $40,12^0/_0$ N. Es fanden sich $54,8^0/_0$ Stickstoff, d. h. der Stickstoff ist nur in wenig größerer Menge enthalten als in der atmosphärischen Luft. In der Regel beträgt dagegen die Stickstoffmenge bei weitem mehr als das 4 fache des Sauerstoffs, was sich mit Leichtigkeit daraus erklärt, daß der Sauerstoff bei den Gärungsprozessen verbraucht wird und daher nur der Stickstoff der Atmosphäre übrigbleibt.

Wir können im Stickstoffgehalt des Gases einen Anhaltspunkt finden für die Beurteilung der Intensität der Gärung insofern, als ja fortwährend Gas durch Aufstoßen von dem Tiere entleert wird, während andererseits neuer Stickstoff mit der verschluckten Luft zugeführt wird und außerdem geringe Mengen Stickstoff aus dem Blut, in dem ja die Tension der $79^0/_0$ N enthaltenden atmosphärischen Luft entspricht, ständig in den Pansen hineindiffundieren. Daß diese Diffusion keine

Tabelle I.

Zusammensetzung der Pansen- und Mastdarmgase bei Wiederkäuern.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Gasprobe Nr.	Datum der Gasprobeentnahme	Tageszeit der Gasprobeentnahme	Angewandte Gasmenge	CO_2	O	CH_4	H	N	Summa	Korrektur für Stickstoff	Verhältnis CO_2 zu CH_4		Verhältnis CH_4 zu H		Fütterung und Haltung des Tieres
			ccm	%	%	%	%	%	%	%	%	$CH_4=1$ gesetzt	%	H = 1	
A. Pansengas der Ziege. Gasprobe Nr. 1 bis 21.															
1	1910 22.XII.	3h n.	12,400	33,10	—	39,48	0,05	27,36[2])	99,99[1])	—	45,60:54,39	0,83:1	99,87:0,12	789:1	Heu
2	1911 12. I.	10h v.	17,690	29,90	—	33,55	0,53	30,77	100,78	−0,76	47,12:52,87	0,89:1	98,44:1,55	63,3:1	Zuckerrüben 1 kg, Heu 0,3 kg u. Gerste 0,2 kg. — Morgens Rüben u. Heu; abends Körner und Heu.
			15,070	29,86	6,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	13. I.	11h v.	15,820	44,59	2,14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			14,870	44,78	—	38,70	1,64	13,78	101,04	−1,08	53,73:46,26	1,16:1	95,47:4,52	21,07:1	
			15,035	44,82	—	38,44	2,02	13,66	100,77	−0,78	—	—	—	—	
4	18. I.	4h n.	14,990	42,39	3,76	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			15,030	42,31	—	29,40	1,70	23,32	100,49	−0,51	59,03:40,96	1,44:1	94,34:5,65	16,6:1	
			15,040	42,32	—	29,35	1,82	23,23	100,48	−0,48	—	—	—	—	
5	19. I.	4h n.	14,980	35,18	5,17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			15,130	35,26	—	29,04	1,49	29,81	100,77	−0,78	54,95:45,04	1,22:1	95,18:4,81	19,77:1	
			15,040	35,20	—	28,72	1,43	30,15	100,67	−0,68	—	—	—	—	
6	21. I.	3h 40′ n.	15,050	54,08	0,39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Rüben 1 kg, Heu 0,3 kg und Hafer 0,2 kg.
			18,050	54,18	—	35,62	4,07	6,98	101,24	−1,25	60,19:39,80	1,52:1	90,83:9,16	9,84:1	
			17,930	54,32	—	36,15	3,17	6,66	100,69	−0,69	—	—	—	—	
7	23. I.	1h 40′ n.	15,060	49,03	0,63	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			15,010	48,93	—	35,64	1,48	13,65	100,33	−0,34	57,88:42,11	1,37:1	95,82:4,17	22,97:1	
			15,050	48,97	—	35,58	1,62	13,75	100,55	−0,55	—	—	—	—	
8	24. I.	5h n.	15,030	28,31	6,95	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			15,005	28,09	—	22,15	1,04	42,05	100,28	−0,29	55,88:44,11	1,26:1	95,63:4,36	21,90:1	
			15,450	27,96	—	22,10	0,99	42,39	100,40	−0,40	—	—	—	—	
9	25. I.	5h 20′ n.	15,050	29,63	5,11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			14,985	29,59	—	31,09	0,84	33,86	100,49	−0,51	48,75:51,24	0,95:1	97,18:2,81	34,50:1	
			14,960	29,47	—	31,00	0,96	33,52	100,06	−0,08	—	—	—	—	

10	28. I.	12h 10′ n.	14,990	46,29	1,86	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Rüben 1 kg und Heu 0,3 kg.
			15,020	46,30	—	39,06	0,73	12,88	100,83	− 0,83	54,24 : 45,75	1,18 : 1	98,06 : 1,93	50,65 : 1	
			15,030	46,30	—	39,04	0,82	12,64	100,66	− 0,63	—	—	—	—	
11	30. I.	10h 15′ v.	14,970	44,92	2,20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			14,980	44,92	—	38,15	0,98	13,74	99,99 [1])	—	—	—	—	—	
			15,035	44,72	—	37,99	0,93	14,96	100,80	− 0,81	54,05 : 45,94	1,28 : 1	97,69 : 2,30	42,32 : 1	
			15,030	44,81	—	38,13	0,81	14,80	100,75	− 0,76	—	—	—	—	
12	30. I.	5h 45′ n.	15,010	33,41	3,86	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			14,970	33,32	—	34,88	1,13	26,80	99,99 [1])	—	—	—	—	—	
			15,050	33,40	—	34,99	0,90	27,34	100,49	− 0,51	48,87 : 51,12	0,95 : 1	97,21 : 2,78	34,90 : 1	
			14,980	33,41	—	34,83	0,96	27,50	100,59	− 0,57	—	—	—	—	
13	2. II.	4h 30′ n.	15,025	37,73	4,22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			15,090	37,77	—	34,49	0,60	23,52	100,60	− 0,60	52,23 : 47,76	1,09 : 1	98,51 : 1,48	66,44 : 1	
			14,967	37,82	—	34,64	0,44	23,35	100,47	− 0,49	—	—	—	—	
14	3. II.	10h 30′ v.	15,010	14,95	10,62	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			15,015	14,98	—	20,01	0,05	54,81	100,47	− 0,45	42,97 : 57,02	0,75 : 1	99,70 : 0,29	332 : 1	
			14,975	15,09	—	19,88	0,08	54,92	100,59	− 0,62	—	—	—	—	
15	7. II.	12h 30′ n.	15,037	31,42	2,59	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Nach 24 St. Hungern.
			15,015	31,40	—	41,77	1,13	23,84	100,73	− 0,74	42,89 : 57,10	0,75 : 1	97,59 : 2,40	40,64 : 1	
			14,990	31,48	—	41,96	0,94	23,74	100,71	− 0,74	—	—	—	—	
16	8. II.	10h 40′ v.	15,000	38,90	1,76	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Rüben 1 kg, Heu 0,3 kg u. Plasmon 130 g.
			14,985	39,07	—	42,55	0,90	16,54	100,82	− 0,78	47,93 : 52,06	0,92 : 1	97,69 : 2,30	42,42 : 1	
			15,045	39,05	—	42,29	1,10	16,76	100,96	− 0,97	—	—	—	—	
17	8. II.	6h 40′ n.	15,090	37,17	3,81	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			15,003	37,19	—	31,34	0,73	27,79	100,86	− 0,86	54,24 : 45,75	1,18 : 1	97,94 : 2,05	47,57 : 1	
			15,000	37,26	—	31,46	0,60	27,63	100,76	− 0,77	—	—	—	—	
18	9. II.	10h v.	15,060	37,71	3,15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Seit Abend 8. II. bis 9. II. 10h v. kein Futter.
			15,010	37,57	—	30,05	1,37	27,94	100,08	− 0,08	55,55 : 44,44	1,25 : 1	95,82 : 4,17	22,96 : 1	
			15,030	37,65	—	30,13	1,26	27,94	100,13	− 0,14	—	—	—	—	
19	30. III.	6h n.	18,730	38,35	—	40,32	1,41	19,919 [2])	99,99 [1])	—	48,74 : 51,25	0,95 : 1	96,62 : 3,37	28,6 : 1	Versuche mit Zuckerlösung: 29. III. Rohrzucker etwa 170 g in Wasserlösg. (1 : 2). — 30. III. um 10h v. 110 g in Pansen mit Spritze eingelass. Heu ad libitum. — 31. III. um 10h v. 160 g Rohrzuck. in Wasserlösg. (1 : 2) m. Spritze in Pansen eingelass. Heu ad libitum.
20	31. III.	10h v.	17,930	36,14	—	27,83	0,948	35,08 [2])	99,998 [1])	—	56,49 : 43,50	1,30 : 1	96,70 : 3,29	29,35 : 1	
21	31. III.	6h 30′ n.	18,638	34,52	—	35,30	0,26	29,91 [2])	99,99 [1])	—	49,44 : 50,55	0,97 : 1	99,26 : 0,73	135,7 : 1	

B. Mastdarmgas vom Ochsen. Gasprobe Nr. 22 bis 23.

22	6. I.	10h 30′ v.	8,180	16,37	0,97 [3])	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Trock. Rübenblätter 8 bis 9 kg.
			16,890	16,36	1,00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
			14,535	16,31	—	46,81	1,81	35,94	101,87	− 1,88	25,84 : 74,15	0,348 : 1	96,27 : 3,72	25,86 : 1	
23	14. I.	11h 30′ v.	16,115	10,11	0,96 [3])	—	—	—	—	—	—	—	—	—	do.
			14,895	10,10	—	56,39	2,10	31,78	101,33	− 1,35	15,19 : 84,80	0,179 : 1	96,40 : 3,59	26,80 : 1	

[1]) Abgekürzte Analyse. — [2]) Stickstoff zusammen mit Sauerstoff bestimmt. — [3]) Sauerstoff aus eingedrungener Luft.

ganz zu vernachlässigende Rolle spielt, werden wir bei Vergleich des CO_2-Gehaltes des Pansengases und der Gärungsgase, die der Panseninhalt im Brutschrank entwickelt, erkennen. Das eigentliche Gärungsgas besteht stets der Hauptmasse nach aus CO_2 und Methan, und zwar ist, wie in Kolumne 12 und 13 genauer in Prozentzahlen dargelegt ist, meist die Menge von CO_2 die größere, in einigen Fällen, so bei reiner Heufütterung in Versuch 1, ferner in den Hungerversuchen Nr. 15 ist die Menge der Kohlensäure wesentlich geringer als die des Methans. Dasselbe findet sich in Versuch 14 bei Fütterung mit Rüben und Heu, während im allgemeinen bei diesem Futter annähernd gleiche Mengen vorhanden sind. Bei Beigabe von Hafer zeigt sich die Menge der CO_2 relativ am größten, indem das Verhältnis der beiden Gase in Versuch 6 bis 1,52:1 steigt; Zugabe von Rohrzucker in konzentrierter Lösung ändert das Verhältnis der beiden Gärungsgase zueinander nicht in charakteristischer Weise. Es zeigen diese Versuche, wo die Zuckerlösung direkt in den Pansen eingeführt wurde, daß auch die Beimengung von Mundspeichel, wie sie bei der normalen Nahrungsaufnahme stattfindet, keinen erheblichen Einfluß auf die Art der Gärung ausübt. Die verabreichten Zuckermengen 160 bis 170 g sind im Verhältnis zur gesamten Nahrungsaufnahme des Tieres (1 kg Rüben, 0,3 kg Heu) sehr erheblich. Auch in den Versuchen 16 und 17, in denen eine sehr beträchtliche Eiweißmenge (130 g Plasmon) dem Tagesfutter zugefügt war, tritt keine charakteristische Änderung in der Zusammensetzung der Gärungsgase auf. Die in diesen Versuchen gefundenen Stickstoffzahlen bewegen sich auch in mittlerer Linie, so daß man keinen Anhaltspunkt für eine erhebliche Steigerung der Gärung durch die große Eiweißzugabe finden kann. Ein Wasserstoffgehalt des Gärungsgases ist fast in allen Fällen nachweisbar, er überstieg aber in keinem Fall 10% des gleichzeitig gefundenen Methans. Bei reiner Heufütterung war die Wasserstoffmenge verschwindend klein, bei Rüben lag sie nur einmal unter 1% des Methans, der höchste Wert wurde bei Fütterung mit Heu, Rüben und Hafer mit über 9% ermittelt.

Um die Gärungsvorgänge im unteren Darmabschnitt des Wiederkäuers zu beobachten, entnahmen wir einige Male einem erwachsenen, zu Respirationsversuchen im Institut befindlichen

Ochsen Mastdarmgase durch Einführen einer mit Wasser gefüllten und mit dem Sammelrohr in Verbindung stehenden Sonde. Das Tier wurde in jener Zeit ausschließlich mit getrockneten Rübenblättern, von denen es täglich 8 bis 9 kg aufnahm, gefüttert. Der auffallendste Unterschied gegenüber den Pansengasen war hier das starke Überwiegen des Methans über die Kohlensäure. Die Menge des ersteren war 3 bis 6 mal so groß als die der letzteren. Ähnliches hatten schon Lehmann, Zuntz und Hagemann (Landw. Jahrbücher 23, 125, 1894) beim Pferde gefunden. Von zwei dort mitgeteilten Analysenreihen von Mastdarmgasen ergab die eine ein Verhältnis von

$$59{,}9\,\%\ CH_4 \text{ zu } 22{,}49\,\%\ CO_2,$$

die andere von einem anderen Tier:

$$53{,}2\,\%\ CH_4 \text{ zu } 21{,}9\,\%\ CO_2.$$

In beiden Fällen enthielt das Gas 2,6 resp. 2,4 % Wasserstoff. Hierin durchaus in Harmonie mit meinen Versuchen, in denen der Wasserstoffgehalt 1,81 resp. 2,10 % betrug und das Verhältnis von

$$CO_2 \text{ zu } CH_4\ 0{,}348 \text{ resp. } 0{,}179:1.$$

In der zitierten Arbeit von Zuntz und Genossen, aber auch schon von Tappeiner wurde darauf aufmerksam gemacht, daß der auffallend niedrige CO_2-Gehalt des Mastdarmgases auf der schnellen Absorption der CO_2 durch das Blut beruht. Die dort mitgeteilten Analysen von Blinddarm- und Grimmdarmgasen, die von demselben Tier, dessen Mastdarmgas vorher untersucht war, unmittelbar nach dem Töten gewonnen wurden, ergaben im Blinddarmgas:

$$78{,}7\,\%\ CO_2,\ 5{,}29\,\%\ CH_4 \text{ und } 0{,}89\,\% \text{ Wassserstoff},$$

im Grimmdarm:

$$72{,}7\,\%\ CO_2,\ 17{,}3\,\%\ CH_4 \text{ und } 0{,}84\,\% \text{ Wasserstoff}.$$

Es wurde aus diesen Ergebnissen geschlossen, daß auf dem Wege zum Mastdarm ein sehr großer Teil der CO_2 durch Absorption von seiten des Blutes aus dem Gemisch verschwunden war. Meine Gärungsversuche werden weitere Beweise für die Richtigkeit dieser Auffassung liefern.

Zu diesen Gärungsversuchen diente zunächst Panseninhalt von demselben Ochsen, dessen Mastdarmgase zur Untersuchung

Tabelle

Gärungsversuche mit Panseninhalt

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Versuchs-Nr.	Anfang der Gärung	Gärungsprobe	Gasprobe	Dauer der Gärung bis zur Entnahme der Gasprobe	Angewandte Gasmenge ccm	CO_2 %	O %	CH_4 %	H %	N %	Summa %	Korrektur für Stickstoff %	Gesamtmenge des entwickelten Gases ccm
													A. Gärungsversuche mit Pansen-
1	20. II.	1	a)	19 St.	15,080	17,08		5,40	0,026	65,66	100,18	— 0,19	140
					15,065	17,09	12,02[2])	5,35[3])	0,05	65,48	99,99	—	—
		2	a)	30 St.	4,520	66,43	—	—	—	—	—	—	15
					8,330	66,68	—	20,07	1,32	13,12	101,19	— 1,20	—
			b)	48 St.	8,497	67,49	—	—	—	—	—	—	53
					9,932	67,52	—	22,80	1,00	8,66	99,98[1])	—	—
2	17. II.	1	a)	24 St.	18,205	51,78	2,66[2])	—	—	—	—	—	90
					14,985	51,64	—	17,01	0,55	28,76	100,62	— 0,62	—
					15,005	51,63	—	16,97	0,71	28,39	100,39	— 0,37	—
3	28. II.	1	a)	48 St.	15,023	87,53	—	—	—	—	—	—	220
					30,003	87,45	—	10,30	1,44	1,03	100,22	— 0,22	—
		2	a)	48 St.	15,015	83,33	—	—	—	—	—	—	210
					15,070	82,90	—	14,87	1,61	0,60	99,98[1])	—	—
					30,060	83,13	—	14,68	1,24	1,13	100,18	— 0,19	—
4	13. III	1	a)	3 Tage	9,530	47,63	—	0,63	4,95	46,67	99,88[1])	—	10,5
		2	a)	3 Tage	18,205	76,21	—	0,24	20,04	3,50	99,99[1])	—	114
		3	a)	3 Tage	10,510	81,60	—	0,12	—	18,26	99,98[1])	—	12
		4	a)	3 Tage	15,045	78,89	—	0,31	19,70	1,08	99 98[1])	—	225
					19,225	78,82	—	0,20	19,76	1,20	99,98[1])	—	—
													B. Gärungsversuche mit Kot
5	21. II.	1	a)	24 St.	12,010	68,44	—	29,80	0,60	1,58	100,42	— 0,44	35
					11,245	68,54	—	29,83	0,56	1,40	100,33	— 0,36	—
6	24. II.	1	a)	22 St.	15,625	69,23	—	—	—	—	—	—	35
					15,030	69,19	—	15,28	0,319	15,568	100,357	— 0,36	—
			b)	3 Tage	15,030	76,00	—	—	—	—	—	—	130
					15,017	75,76	—	15,04	4,60	4,59	99,99[1])	—	—
					15,002	76,04	—	15,01	4,70	4,93	100,68	— 0,69	—
		2	a)	22 St.	3,338	70,34	—	—	—	—	—	—	17
					11,050	70,58	—	26,19	0,88	3,03	100,68	— 0,70	—
			b)	3 Tage	15,065	60,55	1,94[2])	—	—	—	—	—	110
					15,000	60,82	1,98	—	—	—	—	—	—
					14,960	60,76	—	28,63	0,95	7,67	99 99[1])	—	—
					15,072	60,78	—	28,34	0,72	8,85	100,67	— 0,65	—

[1]) Abgekürzte Analyse. — [2]) Sauerstoff mit Luft eingedrungen. — [3]) Ver-

II.

und Kot von Wiederkäuern.

15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Kohlensäure		Gesamtmenge CO_2 in Gärprobe	Brennbare Gase in Gärprobe		Verhältnis			Fütterung des Tieres	Zusammensetzung der Gärungssubstanz
in Gasmischung ccm	in Gärflüssigkeit ccm	ccm	CH_4 ccm	H ccm	$CO_2:CH_4$	$CO_2:H$	$CH_4:H$		
inhalt von Ochsen. (Nr. 1—4.)									
23,94	5,02	28,96	7,56	0,053	3,83:1	—	141:1	8 kg Heu u. 1,65 kg Schrot	75 ccm Panseninhalt und 25 ccm Aq. dest., ohne Zusatz.
—	—	—	—	—	—	—	—		
10,0	0,73	10,73	3,0	0,198	3,57:1	—	15,2:1		Dieselbe Flüssigkeit.
—	—	—	—	—	—	—	—		
35,78	5,68	41,46	12,08	0,53	3,43:1	—	22,8:1		
—	—	—	—	—	—	—	—		
46,53	17,9	64,43	15,3	0,558	4,2:1	—	26,96:1	8 kg Heu u. 1,65 kg Schrot	100 ccm Panseninhalt mit 50 ccm Aq. dest., ohne Zusatz.
—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—		
192,5	58,0	250,5	22,66	3,168	11,0:1	—	7,15:1	8 kg Heu, 1,65 kg Schrot, 1,87kg Melasse und 20 g Salz	125 ccm Panseninhalt mit 8,0 g Rohrzucker.
—	—	—	—	—	—	—	—		
174,5	56,1	230,6	31,0	2,982	7,4:1	—	10,5:1		125 ccm Panseninhalt mit 8,0 g Raffinose.
—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—		
5,0	—	5,0	0,066	0,52	—	9,6:1	0,13:1	7 kg Heu, 2,5 kg Melasse als Tränke, ohne Salz	50 ccm Filtrat (c. 400 ccm) v. Panseninhalt; 50 ccm Ringerlösung; 1,4 g Cellulose, ohne Zusatz.
86,88	15,06	101,94	0,273	22,8	—	4,4:1	0,01:1		Dieselbe Mischung mit 1,0 g Glucose.
9,82	0,18	10,0	—	—	—	—	—		Dieselbe Mischung mit 1,0 g Asparagin.
177,4	40,5	217,9	0,562	44,4	—	4,9:1	0,01:1		Dieselbe Mischung mit 1,0 g Asparagin und 1,0 g Glucose.
—	—	—	—	—	—	—	—		
von Ochsen. (Nr. 5—8.)									
23,97	7,08	31,05	10,43	0,203	2,9:1	—	51,3:1	8 kg Heu, 1,65 kg Schrot	100 g Kot und 50 ccm Aq. dest.
—	—	—	—	—	—	—	—		
24,22	7,02	31,24	4,35	0,112	7,1:1	—	47,9:1	8 kg Heu u. 1,65 kg Schrot mit 3,3 kg Melasse	100 g Kot, 50 ccm Aq. dest. und 1,0 g Glucose.
—	—	—	—	—	—	—	—		
98,80	39,85	138,65	19,50	6,045	7,1:1	—	3,23:1		
—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—		
11,98	2,00	13,98	4,45	0,150	3,1:1	—	29,76:1		100 g Kot, 50 ccm Aq. dest. mit 0,35 g Natr. chlorat.
—	—	—	—	—	—	—	—		
66,88	28,1	94,98	31,33	0,920	3,03:1	—	34,31:1		
—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—		

brennung ohne Zusatz von Sauerstoff.

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Versuchs-Nr.	Anfang der Gärung	Gärungsprobe	Gasprobe	Dauer der Gärung bis zur Entnahme der Gasprobe	Angewandte Gasmenge ccm	CO_2 %	O %	CH_4 %	H %	N %	Summa %	Korrektur für Stickstoff %	Gesamtmenge des entwickelten Gases ccm
7	17. III.	1	a)	3 Tage	—	—	—	—	—	—	—	—	6
		2	a)	3 Tage	—	—	—	—	—	—	—	—	3
		3	a)	3 Tage	18,710	81,56	—	0,20	17,59	0,64	99,99[1])	—	230
		4	a)	3 Tage	18,150	74,87	—	0,15	24,52	0,43	99,97[1])	—	275
8	28. III.	1	a)	24 St.	18,530	66,22	—	8,17	25,26	0,34	99,99[1])	—	84
			b)	3 Tage	—	—	—	—	—	—	—	—	245
		2	a)	3 Tage	18,677	75,74	—	23,38	0,81	0,05	99,98[1])	—	192
		3	a)	3 Tage	18,623	73,97	—	25,12	0,97	—	100,06	—	191
		4	a)	17 St.	18,515	46,51	—	0,27	34,22	18,99	99,99[1])	—	82
			b)	36 St.	18,140	59,73	—	0,22	26,32	13,72	99,99[1])	—	33
			c)	3 Tage	—	—	—	—	—	—	—	—	88

kamen. Dem Tiere wurde eine weite Schlundsonde in den Pansen eingeführt und mit Hilfe einer an das vordere Ende derselben angebundenen Zweiwegspritze der Inhalt ausgesaugt, dann in ein größeres Glasgefäß entleert. Es konnten auf diese Weise leicht 300 bis 1000 ccm Panseninhalt gewonnen werden. Derselbe wurde unmittelbar nach der Gewinnung in dieselben Gärkölbchen gebracht, die Carl Oppenheimer in diesem Institut für die Untersuchung der Gärungsgase bei Kaninchen benutzt hatte (vgl. Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 240). Es wurden 2 bis 4 Gärproben gleichzeitig angesetzt und sofort nach der Füllung der Kolben mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe möglichst vollkommen evakuiert. Sie standen während der in Kol. 5 Tab. II angegebenen Zeit bei einer Temperatur

[1]) Abgekürzte Analyse.

(Fortsetzung.)

15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Kohlensäure		Gesamtmenge CO_2 in Gärprobe	Brennbare Gase in Gärprobe		Verhältnis			Fütterung des Tieres	Zusammensetzung der Gärungssubstanz
in Gasmischung ccm	in Gärflüssigkeit ccm	ccm	CH_4 ccm	H ccm	$CO_2:CH_4$	$CO_2:H$	$CH_4:H$		
—	—	—	—	—	—	—	—	7 kg Heu u. 2,5 kg Melasse	100 ccm Kotemulsion mit 15 ccm Ringerlösung, ohne Zusatz.
—	—	—	—	—	—	—	—		100 ccm Kotfiltrat; 0,8 g Cellulose mit 15 ccm Ringerlösung, ohne Zusatz.
187,6	50,6	238,2	0,460	40,48	—	5,9:1	0,01:1		100 ccm Kotemulsion; 1,0 g Asparagin, 1,0 g Glucose mit 15 ccm Ringerlösung.
205,9	58,7	264,6	0,412	67,43	—	3,9:1	0,006:1		100 ccm Kotfiltrat, 0,62 g Cellulose, 1,0 g Asparagin, 1,0 g Glucose mit 15 ccm Ringerlösung.
56,50	15,3	71,8	6,86	21,22	10,4:1	3,3:1	0,32:1	7 kg Heu u. 2,5 kg Melasse	100 g Kot, 50 ccm Ringerlösung, 2,0 g Melasse (mit 60 °/₀ Rohrzucker) mit 15 ccm Aq. dest.
164,7	44,6	209,3	20,0	61,8	10,4:1	3,3:1	0,32:1		
145,32	50,3	195,62	44,89	1,555	4,3:1	—	28,8:1		100 g Kot, 50 ccm Ringerlösung, 1,0 g milchsaures Calcium mit 15 ccm Aq. dest.
140,28	62,4	202,68	47,98	1,850	4,2:1	—	25,9:1		100 g Kot; 50 ccm Ringerlösung; 15 ccm Aq. dest., ohne Zusatz.
38,13	15,4	53,53	0,22	28,06	—	1,9:1	0,008:1		100 g Kot, 50 ccm Ringerlösung, 1,2 g Rohrzucker mit 15 ccm Aq. dest.
19,71	6,09	25,80	0,07	8,68	—	3,0:1	0,008:1		
52,56	21,48	74,04	[1])0,193	23,16	—	3,0:1	0,008:1		

von 37 bis 38° C im Brutofen. Dann wurden die entwickelten Gase mit Hilfe eines mit Quecksilber gefüllten Rohres, das durch einen langen, dickwandigen Schlauch mit einer Füllkugel verbunden war, abgesaugt. Senkung der Füllkugel ermöglichte hinreichend niedrigen Druck, um fast alles Gas zu entleeren. Teilproben davon wurden zur Analyse genommen. Bei dieser Prozedur ist einmal in Versuch 1 eine erheblichere Menge Luft eingedrungen, was sich in dem hohen Sauerstoffgehalt des Gasgemisches ausspricht. Das Verhältnis der Gärungsgase zueinander wird natürlich durch diese Luftbeimengung nicht beeinflußt. Wo das Lufteindringen vermieden wurde, ist auch der Stickstoffgehalt des Gasgemisches ein sehr niedriger, so in Versuch 3 und in 4, 2 und 4. Es ist darum kaum

[1]) Gasverlust infolge von Überdruck.

zu zweifeln, daß auch in jenen Fällen, wo größere Stickstoffmengen sich finden, diese nicht Gärungsprodukte sind, sondern der eingedrungenen Luft entstammen. Der Wasserstoffgehalt des Gärgemisches war in einigen Fällen sehr hoch, so zwar, daß dieses brennbare Gas in den Versuchen der Reihe 4 geradezu das CH_4 zu vertreten scheint. Es sind dies Versuche, in denen dem Panseninhalt größere Mengen Traubenzucker zugesetzt waren, ebenso wirkte derselbe Zusatz zur Emulsion des Rinderkotes (vgl. Tab. IIb, Reihe 7 und 8, 4).

Tappeiner[1]) hat auch öfter an Stelle der Cellulosesumpfgasgärung eine Wasserstoffgärung beobachtet. Er konnte sie erzeugen, wenn er Cellulose statt wie in seinen Hauptversuchen mit neutralisierter 1%iger Fleischextraktlösung mit schwach alkalischer oder mit einer durch Nägelische Salzlösung auf die Hälfte verdünnten Lösung vergären ließ. Auch Ersatz des Fleischextraktes durch Ammonacetat, Acetamid oder Asparagin hatte diese Wirkung. Diesen zur Wasserstoffgärung führenden Momenten fügt meine Beobachtung als Neues den hohen Gehalt des Gärgemisches an Trauben- oder Rohrzucker hinzu.

Wenn wir die Gärungsversuche mit den Analysen der direkt dem Pansen entnommenen Proben vergleichen, so zeigt sich, daß im letzteren Falle relativ weniger CO_2 und mehr CH_4 im Gasgemische sich findet. Im Pansengas ist einige Male das Volumen der CO_2 geringer als das des CH_4. Im höchsten Falle beträgt die CO_2 das 1,52fache des CH_4. Ganz anders in den Gärungsversuchen. Dort, wo Panseninhalt ohne jeden weiteren Zusatz der Gärung unterworfen wurde, ist die CO_2-Menge die 3 bis 4fache des Methans. Bei Zusatz von löslichen Kohlenhydraten (Traubenzucker, Raffinose, Melasse) steigt das Verhältnis bis auf 11 CO_2 zu 1 CH_4. Es ist kaum anzunehmen, daß die Gärung unmittelbar nach Entnahme der Flüssigkeit aus dem Pansen ihren Charakter ändert. Ein kleines Plus an CO_2 im Gase der Nachgärung erklärt sich wohl daraus, daß im Pansen alkalischer Speichel zufließt und CO_2 bindet, welches Gas dann bei der Nachgärung durch die stetig wachsenden Mengen flüchtiger Fettsäuren in Freiheit gesetzt wird. Rechnen wir aber als höchstes auf 1 kg Heu 4 kg Speichel, also auf das Tagesfutter

[1]) Tappeiner, Untersuchungen über die Gärung der Cellulose, Zeitschr. f. Biol. 20, 76 ff. und 120 ff.

32 kg Speichel mit 75 % CO_2 (Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. 1, 686) = 24 l CO_2, so würde durch Entwicklung dieser CO_2-Menge das Überwiegen dieses Gases in dem bei der Nachgärung auftretenden Gemisch noch lange nicht erklärt sein. Wir dürfen annehmen, daß von den 220 l CH_4, die der Ochse in 24 Stunden produzierte, wenigstens 110 l im Pansen entstehen. Durch Beimischung von 24 l CO_2 würde also das Verhältnis beider Gase nicht einmal von 1:1,2 auf 1:1,4 erhöht werden. Faktisch haben wir bei der Nachgärung 1:3. Die wahrscheinlichste Erklärung scheint mir die zu sein, daß im Pansen erheblichere Mengen CO_2 durch Resorption dem Gasgemisch entzogen werden. Bekanntlich diffundiert CO_2 etwa 30 mal schneller durch eine Membran als Methan. Diese Diffusion der CO_2 ins Blut muß natürlich durch die zarte Schleimhaut des Dick- und Blinddarmes in noch viel reichlicherem Maße erfolgen, als durch die von verhorntem Epithel überzogene Pansenwand. Dieser Auffassung entspricht der Befund der Untersuchung des Mastdarmgases in Versuch 22 und 23. Hier haben wir ein absolutes Überwiegen der Methanmenge gefunden, indem auf 1 Methan nur 0,35 resp. 0,18 Kohlendioxyd entfällt. Mit diesen Befunden stimmen vollkommen die älteren Beobachtungen von Zuntz und Hagemann am Pferde überein (vgl. oben). Um über die Natur der Gärungsprozesse weiteren Aufschluß zu gewinnen, wurde eine Anzahl Gärungsversuche mit Kot resp. mit Panseninhalt in der Weise angestellt, daß dem frisch entnommenen Material gärfähige Substanzen zugesetzt wurden. Wir können diese in Tab. II, A, B zusammengestellten Gärungsversuche dahin resümieren, daß sie den Beweis lieferten, daß die Intensität der Gärungen durch Zusatz von Cellulose zum natürlichen Pansen- resp. Darminhalt nicht gesteigert wird. Das ist begreiflich, wenn wir bedenken, daß in diesem Material ein reichlicher Überschuß von noch unzersetzter Cellulose vorhanden ist. Der Zusatz von Zucker, sei es Traubenzucker, sei es Rohrzucker, sei es Raffinose, hat dagegen regelmäßig eine sehr erhebliche Steigerung des Gärprozesses zur Folge. Man betrachte aus diesen Gesichtspunkten die Kol. 17 und 18 der Tabelle, die die Gesamtmenge der im Gärversuch entwickelten wichtigsten Gase, CO_2 und CH_4, aufweisen. Um diese Gesamtmenge richtig zu berechnen, mußte bedacht werden, daß erhebliche Mengen CO_2

von der gärenden Flüssigkeit absorbiert waren. Diese ließen sich aus dem Absorptionskoeffizient des Gases bei 37,5° (der Gärtemperatur) und aus dem Partialdruck des Gases in dem oberhalb der Flüssigkeit stehenden Gasgemisch leicht berechnen. Als Grundlage dieser Berechnung diente die bekannte Größe des von der Flüssigkeit und des vom Gase eingenommenen Raumes in der Gärflasche und die Gesamtmenge des aus dieser Flasche in dem betreffenden Stadium des Gärversuchs entnommenen Gases. Bei diesen Gärversuchen zeigte sich auch, was wir bei direkter Untersuchung des Pansengases niemals konstatieren konnten, daß zuweilen das entwickelte Methan in seiner Menge gegenüber dem Wasserstoff stark zurücktritt. Man betrachte in der Hinsicht die Gärversuche mit Panseninhalt Nr. 4 und die mit Kot Nr. 7 und 8. Diese reichliche Wasserstoffentwicklung scheint stets dann aufzutreten, wenn große Mengen löslicher Kohlenhydrate, Trauben- oder Rohrzucker vorhanden sind. In geringerem Maße hat auch schon Raffinose diese Wirkung, wie Versuch 3, $_2$ zeigt. Interessant ist bei diesem Versuch, daß Rohrzucker das Verhältnis der beiden Gase 7,15 zu 1 liefert, während es bei Raffinose 10,5 zu 1, bei Traubenzucker gelegentlich, wie in Versuch 4, $_2$ und $_4$ bis auf 0,01 zu 1 heruntergeht. Zu dieser Beobachtung paßt der Befund der direkten Untersuchung des Pansengases, das in Versuch 1 so gut wie frei von Wasserstoff war, während in den späteren Versuchen, bei denen das Tier in Rüben erhebliche Mengen leichtlöslichen Rohrzuckers erhielt, das Verhältnis des Wasserstoffs zum Methan bis zu einem Maximum von 10°/$_0$ gesteigert war. Die Förderung der Wasserstoffbildung durch leicht lösliche Kohlenhydrate tritt auch in den Gärungsversuchen mit Panseninhalt, dem keinerlei Zusätze gemacht waren, hervor. Versuche 1 und 2 entstammen einer Fütterungsreihe, in der der Ochse nur mit Heu und Roggenschrot genährt wurde. Hier überwog die Methanmenge die des Wasserstoffs um das 15 bis 141fache. In Versuch 4 dagegen, wo diesem Futter noch ein größeres Quantum Melasse zugefügt wurde, ist das Methan nur in der Menge von 0,13 auf 1 Wasserstoff vorhanden. Weiter harmoniert auch mit diesem Befunde das Ergebnis der Respirationsversuche, die gleichzeitig an dem Ochsen ausgeführt wurden. Auch in diesen Versuchen wurden

nach der in der Sitzung der Physiologischen Gesellschaft am 20. Januar 1911 von Dr. Klein kurz beschriebenen Methode die brennbaren Gase in der Atemluft untersucht. Es wurde darin ein nicht unerheblicher Prozentsatz an Wasserstoff gefunden, während bei reiner Heufütterung fast nur Methan auftrat.

Es wurde schon eingangs erwähnt, daß die Herabsetzung der Verdauungsdepression durch Beigabe von N-reichen Futterstoffen wohl auf einer Verstärkung der Gärungsprozesse beruhen dürfte. Zur Prüfung dieser Ansicht wurden Proben von Panseninhalt und Kot mit Asparagin versetzt. Es ergab sich, daß Zufügung von Asparagin zu gewöhnlichem Panseninhalt, der von einer genügend eiweißreichen Fütterung herrührte, in Versuch 4, 3 die Gärung nur unbedeutend verstärkte. Die gesamte entwickelte CO_2 betrug in Versuch 4, 1 5,0 ccm in 3 Tagen und nach Zusatz von Asparagin 10,0 ccm. Die Entwicklung brennbarer Gase in den beiden Fällen ist minimal. Es handelt sich also um sehr schwach gärenden Panseninhalt, dessen Gärkraft zwar durch das Asparagin etwas erhöht wurde, aber doch auf sehr niedriger Stufe blieb. Als dann demselben Gemisch 1 g Traubenzucker zugefügt wurde (Versuch 4, 2), stieg die CO_2-Entwicklung auf das 20fache gegenüber Nr. 1, und von brennbaren Gasen wurde jetzt fast ausschließlich Wasserstoff neben geringen Mengen Methan gebildet. Dieser Versuch zeigt, wieviel leichter gelöste Kohlenhydrate von Gärungserregern angegriffen werden im Vergleich mit reiner Cellulose. In Versuch 4 endlich, wo diesem Gemisch noch 1 g Asparagin zugefügt wurde, war die CO_2-Entwicklung mehr als doppelt so stark als in Versuch 2, während das Verhältnis von CO_2 zu Wasserstoff nur wenig erhöht wurde. Ähnlich starke Wirkungen entfaltete das Asparagin bei den Kotgärungen in Versuch 7 und 8. Hier wurde durch Filtrieren fast alle Cellulose des Kotes entfernt und damit jedenfalls auch die große Zahl der den pflanzlichen Trümmern anhaftenden Gärungserreger. Dagegen durfte man annehmen, daß eine noch genügende Anzahl der Mikroorganismen durch das grobe Filter gegangen war, um die angesetzten Lösungen zu infizieren. Es zeigt sich, daß diese Kotlösungen auch nach Zusatz von Cellulose nicht merklich gärten, ebensowenig wie die noch einen großen Teil der Cellulose des Futters enthaltenden, aus demselben Kot her-

gestellten Emulsionen. Als dann diese Kotemulsionen mit Glucose und 1 g Asparagin versetzt wurden, gerieten sie in sehr intensive Gärung, wobei aber fast nur Wasserstoff und CO_2 gebildet wurden, und zwar im Verhältnis von 1 Wasserstoff zu 5,9 CO_2. Das entsprechende Filtrat wurde mit denselben Nährstoffen versetzt und erhielt außerdem 0,62 g reine Cellulose. Beide Flüssigkeiten gärten intensiv und zeigten nur den Unterschied, daß im Filtrat mehr Wasserstoff im Verhältnis zur CO_2 gebildet wurde, als in der Emulsion. Ob dies darauf zurückzuführen ist, daß die Filtration eine Art der Gärungserreger mehr zurückhielt als eine andere, muß weiteren Versuchen vorbehalten bleiben.

Als ein weiterer Beitrag zur Frage, welche Substanzen bei der Gärung angegriffen werden, dient noch Versuch 8, 2, in dem 1 g milchsaures Calcium dem zur Gärung angesetzten Kot beigemengt wurde. Beim Vergleich dieses Versuches mit Nr. 3 zeigt sich gar kein Unterschied, weder in der Menge der entwickelten Gase, noch in der Zusammensetzung. Die Milchsäure scheint durch die hier in Betracht kommenden Gärungserreger nicht unter Gasbildung abgebaut zu werden.

Beitrag zur Kenntnis der Leberfunktionen.

Von

E. Wehrle.

(Aus der Allgemeinen Poliklinik, Basel.)

(*Eingegangen am 28. Mai 1911.*)

Im Jahre 1857 entdeckte Cl. Bernard[1]) das Glykogen und bezeichnete als seine Hauptbildungsstätte die Leber. Er stellte fest, daß das Rohmaterial in der Hauptsache aus den Kohlenhydraten besteht, die vom Darm her durch die Pfortader der Leber zugeführt werden; er beobachtete die bei Hunden mit Pfortaderverschluß auftretende alimentäre Glucosurie und untersuchte das Verhalten des in die Lebergefäße injizierten Zuckers[2]). Das Glykogenbildungsvermögen der Leberzelle ist seither Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen, und auch für die Klinik lag es nahe, funktionelle Prüfungsmethoden daraus abzuleiten. Von Colrat[3]) und anderen sind wiederholt klinische Beobachtungen über die alimentäre Glucosurie unter physiologischen und pathologischen Zuständen der Leber mitgeteilt worden. Zu einem einwandfreien Resultat ist man indes nicht gekommen; die später mitzuteilende neuere Literatur ergibt durch ihre manchmal direkt entgegengesetzten Schlußfolgerungen, wie unsicher unsere Kenntnisse hierüber noch sind.

Seit Cl. Bernard hat sich das Bild der Lebertätigkeit gewaltig kompliziert; sie ist „der schwierigste und verwickeltste Gegenstand der ganzen physiologischen Chemie"[4]) geworden.

---

[1]) Cl. Bernard, Gaz. méd. de Paris 1857, Nr. 13; Compt. rend. 44, 578, 1857.

[2]) Cl. Bernard, Leçons sur le diabète, Paris 1877, S. 268ff.

[3]) Colrat und Conturiers, Dissertation, Paris 1875. (Zitiert nach de Filippi, Zeitschr. f. Biol. 49, 514ff., 1907).

[4]) Bunge, Physiologie des Menschen 2, 437, 1901.

Es sei nur daran erinnert, eine wie große Rolle die Leber bei der Verarbeitung der Abbauprodukte des Eiweißes spielt, besonders in der Harnstoffsynthese. Namentlich beweisen neuere Arbeiten von Neubauer[1]) und seinen Mitarbeitern[2]), wie mannigfaltig die chemischen Prozesse sind, denen die Eiweißspaltprodukte durch die Leberzelle unterzogen werden. Möglicherweise findet die Glykogensynthese aus den Eiweißabkömmlingen und Leimstoffen ebenfalls in der Leber statt.

Es fehlt nicht an Arbeiten, die auf Grund dieser verschiedenen Eigenschaften weitere Prüfungsmethoden der Leberfunktionen zu konstruieren versuchten. Allein auch hier sind die Resultate keineswegs einstimmig. Und doch wären zuverlässige Methoden für Pathologie und Therapie der Leberkrankheiten von größter Bedeutung.

Der Gegenstand der nachfolgenden experimentellen Studien war namentlich das eigentümliche Verhalten der Leber gegenüber der Lävulose. Die meisten der angeführten Autoren sind der Ansicht, daß ein direkter Zusammenhang besteht zwischen der Verminderung der Toleranz gegenüber der Lävulose und der Verminderung des spezifischen Leberparenchyms. Einer bestimmten Insuffizienz der Leber muß also eine bestimmte Intoleranz entsprechen. Ist diese Voraussetzung richtig, so muß die Intoleranz dann am deutlichsten sein, wenn die ganze Leber ausgeschaltet ist.

Versuchsanordnung.

Als Versuchstiere scheinen Hunde wenig geeignet; nicht nur, weil für sie die Operation einen sehr schweren Eingriff bedeutet, dem sie oft erliegen, sondern weil, wie die Versuche von Filippi[3]) zeigen, schon der normale Hund eine auffallend geringe Toleranz für Lävulose aufweist. Die gleiche Angabe finden wir bei Schlesinger[4]) und bei Hohlweg[5]); letzterer teilt mit, daß er mehrfach bei Hunden von rund 10 kg Gewicht schon nach Verabreichung von 10 g Lävulose Zucker im Harn auftreten sah.

---

[1]) Neubauer und Groß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 219, 1910.
[2]) Neubauer und Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 230, 1910.
[3]) Filippi, Zeitschr. f. Biol. 50, 38ff., 1908.
[4]) Wiener klin. Wochenschr. 1902, 768.
[5]) Hohlweg, Arch. f. klin. Med. 97, 443, 1909.

Das am besten geeignete Tier dürfte u. E. die Gans sein, obschon eine nicht unbedeutende Schwierigkeit in der Beurteilung der Resultate darin liegt, daß der Kohlenhydratstoffwechsel der Säugetiere und der Vögel eben nicht der gleiche ist[1]). Bei den Vögeln bestehen, wie bekannt, im porto-renalen, sogenannten Jacobsonschen Blutkreislauf Eigentümlichkeiten[2]), die eine Unterbindung der Vena portar. gestatten, ohne daß dabei eine exzessive Blutstauung im Pfortadergebiet zu befürchten wäre, an der z. B. Säugetiere sonst gewöhnlich zugrunde gehen. Den anderen Vögeln gegenüber verdient die Gans den Vorzug, weil hier die Verhältnisse etwas größer gestaltet sind und dadurch die technische Schwierigkeit der Operation bedeutend vermindert wird. Auch die Form des Brustbeins ist für die Laparotomie günstiger als z. B. bei Hühnern.

Minkowski[3]) hat schon 1886 eine sehr zweckmäßige Operation angegeben, durch die der Leberkreislauf ausgeschaltet wird, ohne daß es nötig wäre, die Ecksche Fistel anzulegen oder die Leber total zu exstirpieren; sie besteht in der Unterbindung der Vena portar.

Unsere Operationstechnik war folgende: Unter aseptischen Kautelen wurde durch einen ausgiebigen Schnitt parallel und unterhalb des rechten vorderen Rippenbogens die Bauchhöhle eröffnet, die Vena portar. in der Tiefe aufgesucht und sorgfältig isoliert. Nach doppelter Unterbindung wurde sie zwischen den Ligaturen durchtrennt. Die Leber zeigte schon kurze Zeit nach der Unterbindung eine eigentümlich fleckige Verfärbung.

Zur Narkose erhielten die Tiere 0,06 g Pantopon[4]) subcutan injiziert. Das Mittel hat sich sehr gut bewährt, indem eine weitere Narkotisierung mit Äther, Chloroform od. dgl. unnötig war. Die Tiere verhielten sich vollkommen ruhig; der Eingriff schien schmerzlos zu sein; es stellte sich auch keinerlei üble Nachwirkung ein. Gut operierte und zweckmäßig behandelte Gänse können monatelang die Operation überleben.

Während der Versuchsdauer befanden sich die Tiere in besonders konstruierten metallenen Kästen mit doppeltem Boden, um die gesamte Ausscheidung quantitativ auffangen zu können. Das normale Futter bestand aus 160 g Mais, 40 g Krüsch und beliebig viel Wasser. An den Versuchstagen erhielten die Tiere keine weitere Nahrung.

Die Ausscheidungen waren nach der Operation stets auffallend flüssig; auf ca. 1000 ccm fielen nach 12stündigem Stehenlassen im Maximum etwa 200 ccm auf feste Bestandteile. Nach gewissen Fütterungsversuchen, besonders nach Lävulose und Glykokoll, waren die festen Bestandteile noch bedeutend mehr vermindert.

Die Untersuchung des Harnes[5]) wurde an den Versuchstagen in zwei ungefähr 12 bis 15stündigen Perioden ausgeführt. Wenn die Almén-

---

[1]) Thiel, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 23, 1887.

[2]) Anastomose mit den Nierengefäßen.

[3]) Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 21, 41, 1886.

[4]) Von Hoffmann-La Roche & Cie., Basel, gütigst zur Verfügung gestellt.

[5]) Der Kürze halber sei die Gesamtausscheidung als „Harn" bezeichnet.

Nylandersche Probe positiv ausfiel, wurde der Zuckergehalt nach Versetzung mit Bleiacetat durch Polarisation sofort bestimmt. In den Lävuloseversuchen wurde auch Titration nach **Fehling** ausgeführt. Ammoniak- und Aminosäurenbestimmung geschahen mittels der Formolmethode nach Angabe von **Frey** und **Gigon**[1]). Lävuloseausscheidungen wurden nach **Seliwanoff** kontrolliert. Der Gesamtstickstoff wurde nach **Kjeldahl** bestimmt (stets gut übereinstimmende Doppelbestimmungen). Für nicht sofort ausführbare Untersuchungen (z. B. **Kjeldahl**) wurden die Harne unter Toluol aufbewahrt.

Geprüft wurde das Verhalten folgender Substanzen: **Lävulose, Dextrose, Maltose, Saccharose, Stärke, Glykokoll.** Eine genau abgewogene Menge wurde jeweils in einem kleinen Quantum Wasser gelöst und quantitativ mit Schlundsonde eingeführt.

Versuchsergebnisse.

Fütterung mit Kohlenhydraten.

Versuchstier Nr.	Datum	Zuckerart		Harn: Menge ccm	Almén	Seliwanoff	Zuckergehalt: pro die Drehung im 1,89-dm-Rohr	Lävulose %	Lävulose g
				A. Beim normalen Tier.					
3	16./17. XI.	Lävulose	40 g	1200	++	++	− 1,82	1,03	12,36
3	18./19 XI.	„	20 g	600	+	+	− 0,75	0,40	2,4
3	21./22. XI.	„	15 g	600	+ (Spur)	+	− 0,42	0,23	1,3
3	23./24. XI.	„	13 g	500	—	—	—	—	—
3	26./27. XI.	Dextrose	40 g	550	—	—	—	—	—
				B. Nach Ausschaltung der Leber.					
2	7./8. IX.	Dextrose	40 g	700	—	—	—	—	—
2	6./7. X.	„	40 g	600	—	—	—	—	—
2	19./20. IX.	Maltose	40 g	950	+ (Spur)	—	—	—	—
2	2./3. X.	„	40 g	700	—	—	—	—	—
2	9./10. X.	Saccharose	40 g	850	—	—	—	—	—
2	13./14. IX.	Stärke	50 g	450	—	—	—	—	—
2	17./18. IX.	Lävulose	40 g	1050	++	++	− 1,69	1,01	10,6
2	19./20. X.	„	20 g		—	—	—	—	—
2 2	13./14. X.	Lävulose Dextrose	je 20 g	750	+ (Spur)	+	− 0,11	—	—
2	28./29. X.	Lävulose	40 g	850	++	++	− 1,73	0,99	8,41

In den Fällen, wo Lävulose ausgeschieden worden ist, könnte man dieser Versuchsanordnung gegenüber den Einwand erheben, daß der Zucker, weil man die Unterbindung des Rectums unterlassen habe, gar nicht resorbiert, sondern vom

[1]) **Frey** und **Gigon**, diese Zeitschr. 1909.

Darme direkt ausgeschieden worden sei. Demgegenüber ist darauf hinzuweisen, daß von anderen verabreichten Zuckerarten, Dextrose, Maltose usw., nie eine Spur in den Exkreten aufgetreten ist, daß sie somit wirklich resorbiert worden sind und die Ursache der Lävulosurie jenseits des Darmes gesucht werden muß. Durch die Unterlassung der Darmunterbindung war auch eine längere Lebensdauer nach der Operation ermöglicht.

Die aus unseren Versuchen sich ergebenden Resultate zeigen zunächst im großen und ganzen eine gute Übereinstimmung mit den Angaben der zitierten Literatur. Filippi[1]) fand z. B. die Toleranzgrenze für Lävulose beim normalen Tier zwischen 10 und 15 g; in unseren Versuchen war sie bei 13 g (zwischen 13 und 14 g). Ebenso finden wir die Ausnahmestellung bestätigt, die die Lävulose den anderen Zuckerarten gegenüber einnimmt.

Ferner zeigt die Tabelle, daß durch die Ausschaltung der Leber keine Verminderung der Toleranz herbeigeführt worden ist, auch nicht gegenüber der Lävulose. Allerdings ist in unseren Versuchen die innere Sekretion der Leber nicht ausgeschaltet gewesen. Es ist klar, daß dieselbe im allgemeinen Stoffwechsel eine große Rolle spielt; für die Beantwortung unserer Fragen kann sie jedoch vorläufig außer Betracht fallen.

Weiterhin ergeben die Versuche, daß, entgegen der üblichen Annahme[2]), mit Sicherheit die Leber **nicht der ausschließliche Hauptsitz der Kohlenhydratverwertung** ist; sie zeigen deutlich, daß der Organismus auch ohne Mithilfe der Leberzellen sehr wohl imstande ist, in der gleichen Zeit gleiche Mengen von Kohlenhydraten zu assimilieren. Es ist deshalb auch nicht anzunehmen, daß die bei Leberkranken konstatierte Toleranzverminderung gegenüber der Lävulose auf dem Mangel an normal funktionierendem Leberparenchym beruhe. Vielmehr scheint es plausibler, dieselbe auf Störungen allgemeiner Natur (allgemeine Intoxikation, Verminderung des Oxydationsvermögens in vielen Organen, Fieber od. dgl.) zurückzuführen, wie sie eben mit den betreffenden Leberkrankheiten verbunden sind. Zugunsten dieser Annahme sprechen auch die Beobachtungen

---

[1]) Filippi, l. c.

[2]) Abderhalden, Lehrb. d. phys. Chemie, 2. Aufl., 1909.

Tallquists[1]). Mit der atrophischen Lebercirrhose ist nicht selten eine auffallende Stickstoffretention verbunden. Andererseits scheinen bei Cirrhosen wie bei anderen Leberstörungen relativ größere Mengen von Kohlenhydraten in der Nahrung erforderlich, um eine regelrechte Fettverbrennung ohne Körpereiweißzerfall zu sichern. Tallquist erklärt diesen Umstand durch eine abnorme Verarmung des Körpers an Glykogen. Diese Ergebnisse dürften u. E. auf Veränderungen im Körper resp. im allgemeinen Stoffwechsel hindeuten, die nicht nur in der Leber lokalisiert sein können. Die Assimilationsfähigkeit für Traubenzucker ist durch mancherlei Umstände beeinflußbar; Muskelarbeit erhöht die Toleranz; Erwärmung der Außentemperatur bewirkt das gleiche.[2]) Diese Momente könnten möglicherweise auf die Toleranz gegenüber der Lävulose einwirken, ohne daß die Leber dabei einen Hauptanteil hätte.

Die neuen Untersuchungen von Schmidt[3]) scheinen diese Ansicht zu bestätigen. Er untersuchte die Lävulosetoleranz bei den verschiedensten Infektionskrankheiten (Pneumonie, Scharlach, Erysipel, Diphtherie usw.) und fand eine Herabsetzung derselben, auch wenn anatomisch keinerlei Veränderung der Struktur der Leber nachgewiesen werden konnte. Die Verwendbarkeit dieses Symptoms in der Leberdiagnostik ist daher fraglich.

Vielleicht ist der Ausdruck „Toleranzgrenze" etwas zu ungenau. Derselbe ist vom Diabetes herübergenommen und wir sind dort gewohnt, diejenige Menge von eingeführtem Zucker als „toleriert" zu betrachten, über die hinaus jede weitere Zufuhr quantitativ wieder ausgeschieden wird. Dies ist nun in unseren Versuchen keineswegs der Fall, weder bei normalen, noch bei operierten Tieren. Gibt man z. B. einem Tier, dessen Toleranz-„Grenze" bei 13 g liegt (das also bei 13 g Lävulose auszuscheiden beginnt), 40 g Lävulose, so werden nicht 27 g ausgeschieden, sondern es werden von diesen „überschüssigen" 27 g noch weitere 10 bis 15 g verwertet. Die Toleranzgrenze ist daher eine sehr relative. Darin liegt ein wesentlicher Unterschied vom Diabetes, und es wäre vielleicht von Vorteil, diese verschiedenen Dinge auch mit verschiedenen Ausdrücken zu benennen.

---

[1]) Tallquist, Arch. f. Hyg. 65, 39, 1908.

[2]) Grober, Arch. f. klin. Med. 95, 137, 1909.

[3]) Wilh. Schmidt, Arch. f. klin. Med. 1910, 369.

Tabelle II.

NH_3- und Amino-N-Ausscheidung bei normalen Tieren.

Versuchstier Nr.	Datum	Futter	Harnmenge ccm	NH_3 mg pro die	NH_3 mg-%	Amino-N mg pro die	Amino-N mg-%
3	13./14. XI.	normal[1])	900	61	6	113	12
1	19./20. VIII.	"	1100	—	—	107	9
3	28./29. XI.	"	500	180	36	66	13
2	18./19. VIII.	"	800	484	60	134	16
2	17./18. VIII.	Glykokoll 10 g	1100	441	40	61	5
3	14./15. XI.	" 20 g	A 900	177	19	957	106
			B 900	36	4	113	12
3	16./17. XI.	Lävulose 40 g	A 1200	146	12	33	2
			B 300	46	15	29	9

Tabelle III.

NH_3- u. Amino-N-Ausscheidung nach Ausschaltung der Leber.

Versuchstier Nr.	Datum	Futter	Harnmenge ccm	NH_3 mg pro die	NH_3 mg-%	Amino-N mg pro die	Amino-N mg-%	Gesamt-N pro die g
2	22./23. VIII.	normal[1])	600	198	33	58	10	
2	23./24. VIII.	"	500	170	34	182	36	0,41
2	24./25. VIII.	"	1200	504	42	33	3	
2	29./30. VIII.	"	1500	270	18	126	8	1,18
2	29./30. XI.	"	1800	230	18	226	12	
2	31. VIII./1. IX.	"	900	251	59	25	5	
2	1./2. IX.	"	1150	232	39	27	5	
2	6./7. IX.	"	1100	143	130	61	6	0,37
2	8./9. IX.	"	1200	1770	147	184	15	
2	9./10. IX.	"	1250	1385	110	87	7	
2	11./12. IX.	"	1050	1142	108	102	10	
2	12./13. IX.	"	1500	1650	112	105	7	
2	14./15. IX.	"	1200	1452	121	84	7	1,01
2	15./16. IX.	"	1200	1476	123	50	4	
2	18./19. IX.	"	1350	1698	125	75	5	
2	20./21. IX.	"	600	741	114	100	15	
2	30./31. VIII.	Glykokoll 10 g	A 600	261	43	235	39	} 0,80
			B 550	146	28	154	28	
2	10./11. IX.	" 10 g	A 1050	984	93	249	23	
			B 350	447	127	9	3	
2	24./25. X.	" 20 g	1650	123	7,5	1686	102	
2	17./18. IX.	Lävulose 40 g	A 1050	971	92,5	58	5	
			B 400	405	101	28	7	
2	7./8. IX.	Dextrose 40 g	A 700	890	127	0	0	
			B 350	397	116	5	1	
2	13./14. IX.	Stärke 50 g	A 450	437	97	63	14	
			B 700	714	102	49	7	
2	19./20. IX.	Maltose 40 g	A 950	943	99	53	5	
			B 450	443	98	63	14	

[1]) Siehe Versuchsanordnung.

Die Ammoniakausscheidung bei normalen Tieren zeigt große Schwankungen[1]). Eine merkliche Beeinflussung derselben durch Glykokoll oder Lävulose ist nicht nachweisbar. Deutlich ist dieselbe jedoch beim Amino-Stickstoff: nach Zufuhr von 20 g Glykokoll erhalten wir eine sichtliche Steigerung der Amino-N-Ausscheidung, pro Tag 1,07 g. Auf 10 g Glykokoll erfolgt keine Steigerung.

Bei den operierten Tieren ist die Ammoniakausscheidung mit Sicherheit vermehrt. Das operierte Tier Nr. 2 ergibt z. B. folgendes merkwürdige Verhalten: NH_3, in den ersten Tagen nach der Operation um 200 mg pro die schwankend, steigt vom 8./9. an auf 1770 mg und bleibt bis zum Tode auf dieser Höhe. Zufuhr von Glykokoll, Lävulose usw. zeigte keinen merklichen Einfluß auf die NH_3-Ausscheidung.

Der Aminostickstoff, vor der Operation im Durchschnitt ca. 170 mg betragend, weist nach der Operation beim gleichen Tier an den Normaltagen ebenfalls große Schwankungen auf, z. B. von ca. 30 mg auf 200 mg. Glykokoll scheint einen deutlicheren Einfluß ausgeübt zu haben, als beim Normaltier; eine Zufuhr von 10 g verursacht in den ersten 12 Stunden eine Amino-N-Ausscheidung von rund 240 mg, eine Zahl, die an keinem einzigen Normaltage erreicht wurde. Nach Zufuhr von 20 g Glykokoll steigt die Ausscheidung sogar auf 1770 mg. Die Leberausschaltung scheint also die Toleranz entschieden beeinflußt zu haben. Wir wollen uns aber dabei nicht unbedingt denjenigen Literaturangaben anschließen, die die vermehrte Ausscheidung der Aminosäuren im Harn als pathognomonisch für die Lebercirrhose ansehen; auch bei anderen Lebererkrankungen und auch bei Störungen allgemeiner Natur kommt sie vor. Falk und Hesky[2]) berichteten z. B. kürzlich über Vermehrung des Amino-N während der Gravidität.

Die Versuche von Paulow, denen zufolge Hunde mit Eckscher Fistel kein Fleisch vertragen, haben sich später nicht im ganzen Umfange bestätigt: Zufuhr von Ammoniaksalzen und

---

[1]) Die Gesamt-N-Menge betrug z. B. beim normalen Tier 50,4 mg-%, 756 mg pro die (Versuchstier Nr. 2, 29./30. VIII.), also im Vergleich zum Säugetier eine auffallend geringe Zahl; schon Minkowski hat darauf hingewiesen.

[2]) Falk und Hesky, Zeitschr. f. klin. Med. 71, 261, 1910.

Glykokoll führten bei den operierten Tieren nicht zu Vergiftungserscheinungen[1]). Die Vergiftung der Paulowschen Hunde dürfte daher auf weitere noch unbekannte Momente zurückzuführen sein.

Schlußsätze.

Unsere Ergebnisse lassen sich in folgendem zusammenfassen:

1. Die Leber spielt bei der Verarbeitung der Kohlenhydrate eine bedeutende Rolle, jedoch werden große Mengen von Kohlenhydraten vom Organismus assimiliert, auch wenn die Leber ausgeschaltet ist.

2. Der Organismus zeigt den verschiedenen Kohlenhydraten gegenüber eine verschiedene Toleranz, besonders hinsichtlich der Lävulose[2]). Diese Verhältnisse werden durch die Leberausschaltung nur unwesentlich verändert.

3. Die verminderte Toleranz gewisser Leberkranker gegenüber der Lävulose ist höchstwahrscheinlich nicht auf den Verlust an funktionstüchtigem Leberparenchym, sondern auf Störungen allgemeiner Natur (Intoxikation, vermindertes Oxydationsvermögen der Organe, Fieber od. dgl.) zu beziehen.

Die klinisch-diagnostische Verwertbarkeit dieses Symptoms ist daher fraglich.

4. Mit der Ausschaltung der Leber ist eine deutliche Vermehrung der Ammoniakausscheidung verbunden.

5. Die Steigerung der Amino-N-Ausscheidung nach Glykokollzufuhr ist nach der Leberausschaltung ausgesprochener als vorher.

---

[1]) Rothberger und Winterberg, Zeitschr. f. Physiol. 18, 826, 1904.

[2]) Geprüft wurde das Verhalten gegenüber Lävulose, Dextrose, Maltose, Saccharose und Stärke.

Über eine neue Bildungsweise der Glucuronsäure.

Von

Adolf Jolles.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Prof. A. Jolles in Wien.)

(Eingegangen am 1. Juni 1911.)

Eine umfangreiche Literatur[1]) zeugt von dem großen Interesse der physiologischen Chemiker für die Glucuronsäure. Diese gilt bekanntlich als ein intermediäres Stoffwechselprodukt des tierischen Körpers, das unter gewöhnlichen Umständen nur in sehr geringer Menge in Form „gepaarter Verbindungen" nachgewiesen werden kann. Sie tritt aber in größerem Maße im Harn auf, wenn sie durch Einführung verschiedener Substanzen in den Organismus, Glieder der aliphatischen und aromatischen Reihe, die die Rolle eines Paarlings übernehmen, vor weiterer Oxydation geschützt wird.

In der Pflanzenwelt wird sie äußerst selten angetroffen[2]).

Während aber das Rätsel der Entstehung dieser Säure im tierischen Körper noch nicht gelöst ist, hat man längst ihre nahe Verwandtschaft zum Traubenzucker erkannt.

Die Ansicht, daß die Glucuronsäure hinsichtlich ihrer Konstitution zwischen Gluconsäure und Zuckersäure stehen müsse, hat schon Baeyer[3]) ausgesprochen, dieselbe haben Fischer und Piloty[4]) durch die Synthese bestätigt, indem sie bekanntlich Glucuronsäure durch Reduktion des Zuckersäurelactons mit Natriumamalgam in saurer Lösung darstellten.

---

[1]) Vgl. E. v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten, 1904, S. 360 ff.

[2]) Vgl. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 1905, I, S. 201, und Goldschmidt und Zerner, Monatsh. f. Chem. 31, 439, 1910.

[3]) Annal. d. Chem. 155, 257.

[4]) E. Fischer und O. Piloty, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 251.

Es ist aber bisher noch nicht sicher gelungen, Glucuronsäure durch Oxydation der Glucose zu erhalten, die nur um 1 Sauerstoffatom weniger und um 2 Wasserstoffatome mehr besitzt.

Neuberg[1]), der in neuerer Zeit zahlreiche Darstellungsweisen von Carbonylsäuren, die der Glucuronsäure isomer oder homolog sind, aus Kohlenhydraten aufgefunden hat[1]), beobachtete, daß bei der Oxydation des Traubenzuckers mit Salpetersäure (s = 1,15) auch eine Carbonylsäure der 6-Kohlenstoffreihe auftritt, die viel Ähnlichkeit mit der Glucuronsäure besitzt; ihre Konstitution ist jedoch noch nicht festgestellt. In einer ausführlichen Arbeit über den Zerfall der Zuckerarten[2]) habe ich berichtet, daß bei der Oxydation von Saccharose und Maltose in verdünnter schwach alkalischer bzw. neutraler Lösung mit Wasserstoffsuperoxyd bei 37° eine Säure entsteht, die die Tollenssche Reaktion mit Naphthoresorcin und die Bialsche Orcinprobe liefert. Diese Reaktionen sind indes nicht eindeutig[3]), und ich habe ja auch bei der Oxydation der Arabinose das Auftreten einer Säure beobachtet, die die oben erwähnten Reaktionen gab und nicht mit Glucuronsäure identisch sein konnte. Nur bei der Maltose gelang es mir damals, das Calciumsalz der Säure in genügender Menge darzustellen und zu analysieren. Der gefundene Wert stimmte mit dem für glucuronsaures Calcium berechneten gut überein, die Ermittlung der Konstitution mußte ich jedoch einer späteren Untersuchung vorbehalten.

Jetzt bin ich nun in der Lage, mitzuteilen, daß sich Glucuronsäure durch Oxydation von Glucose in verdünnter (2°/$_0$iger) wässeriger neutraler Lösung mit Wasserstoffsuperoxyd bei 37° synthetisch gewinnen läßt.

Daß Glucuronsäure erhalten wird, habe ich durch die Darstellung des p-Bromphenylhydrazinderivates, dessen Eigenschaften mit den von Neuberg[4]) angegebenen sehr gut übereinstimmen, und durch die Oxydation zu Zuckersäure bewiesen. Ferner gab die isolierte Säure die Reaktionen von Tollens,

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 7, 527, 1908; 13, 305, 1908; 17, 270, 1909; 24, 440, 1910; 27, 227, 1910; 28, 355, 1910.

[2]) O. Jolles, diese Zeitschr. 29, 125, 1910.

[3]) Neuberg, diese Zeitschrift 13, 148, 1908; 24, 436, 1910.

[4]) Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2395, 3384, 3388.

Bial und Goldschmidt[1]) und lieferte auch, nach Tollens[2]) mit Salzsäure (s = 1,06) destilliert, Furfurol.

Die Ausbeute ist allerdings keine gute zu nennen, was bei der geringen Widerstandskraft der Glucuronsäure gegenüber Oxydantien und den Schwierigkeiten bei der Reindarstellung der Säure nicht verwunderlich ist. Sehr wichtig ist darum die genaue Einhaltung der angegebenen Bedingungen, da man sonst nur sehr wenig Glucuronsäure erhält. Ich behalte mir aber weitere Versuche zur Erhöhung der Ausbeute vor.

Experimenteller Teil.

Allgemeiner Vorgang.

Die Darstellung der Glucuronsäure erfolgte nach zwei Methoden, von denen das Verfahren II empfehlenswerter erscheint.

I.

15 l einer 2%igen Lösung chemisch reiner Dextrose (Kahlbaum) wurden in 3 Flaschen zu 5 l verteilt, mit je 100 ccm 12%igem (Vol.-%) H_2O_2 pro Flasche versetzt und 144 Stunden (6 Tage und 6 Nächte) bei 37° C stehen gelassen. Nach je 24 Stunden wurde der Wasserstoffsuperoxydzusatz erneuert.

Diese Versuchsbedingungen haben sich als die vorteilhaftesten herausgestellt. In mehreren Versuchen wurde nämlich der Verlauf der Oxydation mittels der Tollensschen Reaktion mit Naphthoresorcin verfolgt. Die Färbung war bereits nach 72 Stunden intensiv und erreichte nach 144 Stunden ihr Maximum, indem sie bei längerer Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd zu verblassen begann.

Nach 144 Stunden wurde nun die Lösung neutralisiert, das überschüssige Wasserstoffsuperoxyd mit Platinmohr zerstört, die unveränderte Dextrose mit Hefe bei 37° vergoren und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeengt. Dann wurde Ammoniak und eine konzentrierte Lösung von Bleiessig zugesetzt. Das ausgefallene Bleisalz wurde gründlich mit Wasser von 70 bis 80° C ausgewaschen, hierauf in $1^1/_2$ l Wasser von 70 bis 80° C suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt.

---

[1]) Goldschmidt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 390.

[2]) B. Tollens, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59.

H_2S wurde so lange eingeleitet, bis die Suspension auch nach 2stündigem Stehen noch deutlich nach Schwefelwasserstoff roch. Das Bleisulfid wurde abfiltriert und auf der Nutsche mit Wasser von 70 bis 80° gewaschen. Die vereinigten Filtrate (ca. 2 l) wurden unter vermindertem Druck bei 40° auf ca. 30 ccm eingeengt.

II.

15 l einer 2°/₀igen Lösung reiner Dextrose (Kahlbaum) wurden bis zur Zerstörung des überschüssigen Wasserstoffsuperoxyds durch Platinmohr genau so behandelt wie bei I beschrieben. Alsdann wurde die Glucuronsäure durch basisches Bleiacetat gefällt, und zwar wurde Bleiessig so lange zugesetzt, als noch eine Fällung erfolgte. Durch 5maliges Dekantieren mit je 5 l dest. Wasser wurde das Bleisalz gereinigt, wobei das Absetzen des Niederschlages jedesmal ca. 2 bis 4 Tage dauerte. Hierauf wurde der Niederschlag in ca. $1^1/_2$ l Wasser suspendiert, auf 70 bis 80° C erwärmt und zur Zerlegung des Bleisalzes Schwefelwasserstoff so lange eingeleitet, bis selbst nach 2stündigem Stehen die Suspension noch stark nach Schwefelwasserstoff roch. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit heißem Wasser (70 bis 80°) ausgewaschen und Filtrat samt Waschwasser (ca. 2 l) im Vakuum bei 40° C bis auf ca. 30 ccm eingeengt.

Diese konzentrierte Lösung erwies sich als vollkommen frei von Dextrose.

Darstellung der Parabromphenylhydrazinverbindung.

Die nach Verfahren II erhaltene konzentrierte wässerige Lösung von Glucuronsäure diente zur Darstellung des p-Bromphenylhydrazinderivates nach der Vorschrift von C. Neuberg[1]). Verwendet wurde p-Bromphenylhydrazinchlorhydrat von Kahlbaum, das durch zweimaliges Umkrystallisieren aus verdünnter Salzsäure gereinigt wurde.

Die wässerige Lösung der Glucuronsäure wurde zu einer Lösung von 5 g p-Bromphenylhydrazinchlorhydrat und 6 g Natriumacetat in heißem Wasser hinzugefügt und auf kochendem Wasserbade ca. 20 Minuten stehen gelassen. Die ab-

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2395 und 3384 bis 3388.

geschiedenen gelbbraunen Flocken wurden abfiltriert. Die Mutterlauge schied beim Stehen auf dem Wasserbade wieder Flocken ab. Diese wurden mit den ersten vereinigt und mit heißem Wasser ausgewaschen. Mit absolutem Alkohol digeriert, gewann das Produkt ein reineres Aussehen und schmolz, auf Ton abgepreßt, bei 200°. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus 60prozentigem Alkohol lag der Schmelzpunkt bei 229° [1]). Von einer weiteren Reinigung wurde mit Rücksicht auf die geringe zur Verfügung stehende Substanzmenge abgesehen.

0,170 g p-Bromphenylhydrazinderivat wurden in einer Mischung von 4 ccm Pyridin und 6 ccm Alkohol gelöst, so daß eine 1,7 %ige Lösung erhalten wurde. Diese zeigte im 100-mm-Rohr bei Natriumlicht im Halbschattenapparat

$$\alpha = -6{,}15;$$

daraus berechnet sich

$$[\alpha]_D^{20} = -362^\circ,$$

während Neuberg für das Parabromphenylhydrazinderivat der Glucuronsäure $[\alpha]_D^{20} = -369^\circ$ angibt. Da für eine Verbrennung die restliche Quantität des p-Bromphenylhydrazinderivates nicht ausreichte, so wurde nach dem beschriebenen Verfahren II neuerdings aus 15 l einer 2 %igen Dextroselösung Glucuronsäure dargestellt und in die Parabromphenylhydrazinverbindung übergeführt.

Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus 60 %igem Alkohol lag der Schmelzpunkt bei 231°.

Die Elementaranalyse ergab folgendes Resultat:

1. 0,1562 g Substanz lieferten CO_2 0,2161, H_2O 0,0648;
2. 0,1604 g Substanz lieferten 10,1 ccm N bei 20° und 757 mm.

Gefunden:	Berechnet für $C_{12}H_{17}O_7N_2Br$:
C = 37,53	C = 37,78
H = 4,64	H = 4,49
N = 7,21	N = 7,37

Oxydation zur Zuckersäure.

10 ccm der konzentrierten Lösung der nach Verfahren I gewonnenen Glucuronsäure, die unter sonst gleichen Umständen

[1]) Neuberg gibt 236° an.

wie oben, aber aus 6000 ccm einer 2%igen Dextroselösung durch 336stündiges Stehenlassen bei 37° mit Wasserstoffsuperoxyd und schließliches Einengen auf 20 ccm unter vermindertem Druck erhalten worden war[1]), wurden mit 10 ccm Wasser und 4 g Brom in ein Bombenrohr eingeschmolzen und 4 Stunden auf 100° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der Inhalt in einer Glasschale auf dem Wasserbade auf ca. 5 ccm eingedampft, mit 20 ccm Wasser verdünnt und abermals auf 5 ccm eingedampft. Durch Zusatz von Bariumhydroxyd wurde das basische Bariumsalz der Zuckersäure dargestellt, abgesaugt und mit Bariumhydroxydlösung so lange gewaschen, bis im ablaufenden Waschwasser kein Halogen mehr nachweisbar war. Das basische Bariumsalz wurde mit konzentrierter Ammoncarbonatlösung versetzt, ca. 1/4 Stunde erhitzt und das klare Filtrat, das nun das Ammoniumsalz enthielt, auf dem Wasserbade auf ca. 10 ccm eingedampft, mit Wasser verdünnt und wieder auf ca. 5 ccm eingeengt. Aus dieser konzentrierten Lösung schied konzentrierte Silbernitratlösung ein Silbersalz ab, das abfiltriert, mit wenig Wasser und Alkohol ausgewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde.

0,2158 g vakuumtrockene Substanz lieferten
0,1108 g metallisches Silber.

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_8O_8Ag_2$:
51,37%	50,92%.

[1]) Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß unter den beschriebenen Versuchsbedingungen das Auftreten von Zuckersäure nicht konstatiert werden konnte.

Über die Einwirkung der Enzyme des Magens, des Pankreas und der Darmschleimhaut auf Gelatine.

Von

D. Minami.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Breslau.)

(Eingegangen am 3. Juni 1911.)

In seinen Versuchen über die Zersetzung der Gelatine durch Micrococcus prodigiosus hatte P. Mesernitzky[1]) die Beobachtung von R. Pfeiffer bestätigt, nach welcher der M. prodigiosus ein kochbeständiges, die Gelatine verflüssigendes Enzym bildet. Weiterhin hatte er gefunden, daß durch dieses Enzym aus der Gelatine krystallinische Spaltungsprodukte entstehen. Von diesen wurde mit Sicherheit Glykokoll nachgewiesen und die Bildung von Leucin und Prolin höchst wahrscheinlich gemacht.

Für das Verständnis dieses Enzyms schien es von Bedeutung, seine Wirkung mit der der bekannten Verdauungsfermente Pepsin, Trypsin und Erepsin zu vergleichen. Diesem Zwecke dienen die folgenden Versuche, die ich auf Anregung und unter Leitung von Prof. F. Röhmann ausführte.

Es wurden bei ihnen im wesentlichen dieselben Methoden benutzt, die von Mesernitzky angewendet worden waren: 1. Prüfung der Schnelligkeit, mit der die Verflüssigung der Gelatine eintritt; 2. Verhalten der verflüssigten Gelatine zu Ammonsulfat und Tannin; 3. Bestimmung des durch Tannin fällbaren bzw. nicht fällbaren Stickstoffs; 4. Beurteilung der eingetretenen Spaltung auf Grund der Formoltitrierung nach Sörensen; 5. Versuche zur Darstellung der Spaltungsprodukte, letzteres nur in den Versuchen mit dem Pankreasferment.

Zu allen Versuchen diente käufliche Gelatine „Silberdruck".

[1]) Diese Zeitschr. 29, 104, 1910.

I. Die Verflüssigung der Gelatine durch Verdauungsfermente.

Versuch 1. 10%ige Gelatine wurde unter Zusatz von 2% Salzsäure (spez. Gew. 1,125) bei 38° im Brutschrank stehen gelassen. Nach 5, 12, 24 Stunden usw. wurden Proben entnommen. Sie bläuten stets Kongopapier stark und wurden nach Zusatz von Phenolphthalein mit konz. Kalilauge bis zur schwach rosaroten Färbung versetzt. Es ergab sich, daß die während der ersten 4 Tage untersuchten Proben gelatinierten. Erst nach 5 Tagen war das Gelatinierungsvermögen vollständig verschwunden.

Versuch 2. 300 ccm 10%ige Gelatinelösung wurden mit 6 ccm konz. Salzsäure und 1,5 g käuflichem Pepsin versetzt. Eine Probe der neutralisierten Lösung gelatinierte noch nach 1 Tag, nicht mehr nach 2 Tagen.

Versuch 3. 100 ccm 10%ige Gelatinelösung wurden mit 2 ccm konz. Salzsäure und 5 ccm eines Infuses der Magenschleimhaut vom Hunde im Brutschrank stehen gelassen. Der Infus war gewonnen durch Extraktion der Magenschleimhaut mit dem doppelten Gewicht 0,25%iger Salzsäure. Erst nach 48 Stunden gelatinierte die neutralisierte Flüssigkeit nicht mehr.

Versuch 4. 300 ccm einer 10%igen Gelatinelösung wurden mit 1,5 Pankreatin (Rhenania) und 0,75% Natriumbicarbonat im Brutschrank digeriert. Nach 2 Stunden gelatiniert die mit verdünnter Salzsäure neutralisierte Flüssigkeit nicht mehr.

Versuch 5 entsprechend mit Pankreon (Rhenania). Die Flüssigkeit hatte bereits nach einigen Minuten ihr Gelatinierungsvermögen verloren.

Versuch 6 entsprechend mit 15 ccm eines Chloroformextraktes eines Hundepankreas. Das zerriebene Pankreas war mit der doppelten Menge Chloroformwasser bei Zimmertemperatur übergossen und der Extrakt am folgenden Tage zuerst durch Gaze, dann durch Faltenfilter filtriert worden. Die Gelatine verlor innerhalb 2 Stunden ihr Gelatinierungsvermögen.

Versuch 7. 100 ccm einer 10%igen Gelatine wurden mit 0,25 g Natriumbicarbonat und 10 ccm eines Extraktes der Dünndarmschleimhaut eines Hundes versetzt. Der Extrakt wurde aus der mit einem Objektträger abgeschabten und dann zerkleinerten Schleimhaut durch Übergießen mit der doppelten Menge Chloroformwasser gewonnen. — Die Flüssigkeit gelatinierte noch nach 24 Stunden, aber nicht mehr nach 48 Stunden.

Die Versuche zeigen, daß das Pankreasferment die Gelatine in kürzester Zeit verflüssigt. Pepsinsalzsäure bewirkt die Verflüssigung unvergleichlich viel langsamer, ebenso der Extrakt der Dünndarmschleimhaut. Salzsäure in einer Konzentration von 0,25% läßt bei Bruttemperatur das Gelatinierungsvermögen

einer 10 %igen Gelatinelösung erst im Verlaufe mehrere Tage vollkommen verschwinden.

In der Stärke seiner Wirkung scheint, wenn man die Versuche von P. Mesernitzky berücksichtigt, die Prodigiosusgelatinase mehr der Pankreasgelatinase als der Wirkung der Pepsinsalzsäure oder dem Enzym der Darmschleimhaut zu gleichen.

II. Fraktionierte Fällung der verdauten Gelatinelösung mit Ammonsulfat und Tannin.

Die Verdauungsgemische wurden vor der Fraktionierung mit derjenigen Menge einer konzentrierten Kalilauge bzw. Salzsäure versetzt, die erforderlich war, um bei Anwesenheit von Phenolphthalein schwache Rotfärbung zu erzeugen.

a) Fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat.

Zur Fraktionierung wurden nach der Methode von F. Hofmeister stets 2 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit mit einer abnehmenden Menge Wasser und einer steigenden Menge einer kaltgesättigten, nicht „neutralisierten" Ammonsulfatlösung auf 10 ccm aufgefüllt. Am folgenden Tage wurde durch trockene Filter filtriert; vom Filtrat wurden 5 ccm mit weiteren 0,2 ccm der Ammonsulfatlösung versetzt.

Nach den Beobachtungen von P. Mesernitzky liegen die Fällungsgrenzen der Gelatine zwischen 3,0 und 3,8 bzw. 4,2 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung in 10 ccm.

In der Gelatinelösung, die mit 0,25 % Salzsäure allein im Brutschrank stand, trat, wie ich fand, nach 5stündigem Stehen eine Fällung auf, als die Flüssigkeit 2,6 ccm der Ammonsulfatlösung in 10 ccm enthielt. Die Fällung war vollständig bei 4 ccm.

Nach 24stündigem Stehen entstand die Fällung bei 3 ccm Ammonsulfat, bei 4,2 ccm blieb das Filtrat auf weiterem Zusatz von Ammonsulfat klar.

Die Gelatinelösung schien also beim Stehen mit der Salzsäure gewisse Veränderungen zu erfahren. Sie enthielt aber anscheinend noch wesentliche Mengen unveränderter Gelatine.

In den Versuchen mit Pepsinsalzsäure trat nach 5stündiger Verdauung eine Fällung ebenfalls bei 2,6 auf, die

obere Fällungsgrenze lag bei 4,2. Also auch hier war noch unverdaute Gelatine vorhanden. Nach 24 Stunden entstand kein Niederschlag mehr, sondern nur eine Opalescenz. Die Gelatine war fast völlig verdaut.

Ähnlich verhielt sich auch die Gelatinelösung nach Einwirkung von Pankreatin.

Ein Auftreten mehrerer Fraktionen wurde in keiner dieser Versuchsreihen beobachtet.

b) Fraktionierte Fällung mit Tannin.

Wie in den Versuchen von P. Mesernitzky wurden Gemische hergestellt, die in 10 ccm Flüssigkeit je 1 ccm 10%ige Gelatinelösung und steigende Mengen einer 5%igen Tanninlösung enthielten. Am folgenden Tage wurde durch ein trockenes Filter filtriert. Vom Filtrat wurden je 5 ccm mit 0,2 ccm der 5%igen Tanninlösung versetzt und untersucht, ob noch eine Trübung, bzw. ein geringer Niederschlag beim Stehen erschien.

Da in den Versuchen die Entscheidung darüber, ob in den abfiltrierten 5 ccm bei weiterem Zusatz von Tannin noch ein Niederschlag auftrat, gewisse Schwierigkeiten bereitete, wurde daran gedacht, die obere Fällungsgrenze, d. h. den Punkt, an dem die Fällbarkeit durch Tannin aufhörte, mittels Eisenchlorid, Kalilauge oder Jodkaliumquecksilberjodid zu bestimmen, also den Punkt, wo das Tanninfiltrat keinen Leim mehr enthält, bzw. überschüssiges Tannin im Filtrat auftritt. Es erwies sich dies jedoch als nicht möglich, da die Filtrate des Leimtannats in meinen Versuchen stets kleine Mengen von Tannin bzw. Gallussäure enthielten und sich mit Jodkaliumquecksilberjodid zwar der Punkt, wo durch das Tannin aus einer reinen Leimlösung aller Leim ausgefällt ist, scharf bestimmen läßt, unter dem Einfluß der Enzyme aber auch Spaltungsprodukte des Leims gebildet werden können, die nicht durch Tannin, aber durch dieses Reagens gefällt werden, so daß man auch nach Ausfällung des Leims noch eine Reaktion erhalten würde.

Zur Fällung wurde zuerst gewöhnliches Tannin, später reine „Galläpfelgerbsäure" von E. Merck benutzt. Die noch zu erwähnenden salzsauren Lösungen wurden auf Grund einer Titrierung mit Natronlauge für Phenolphthalein, die alkalischen Lösungen mit der berechneten Menge Salzsäure schwach angesäuert.

Die Ergebnisse der Fraktionierung sind die folgenden:

Wenn die Gelatine mit keinem anderen Zusatz als etwas Thymol (1 ccm der 10%igen alkoholischen Thymollösung auf

100 ccm der 10%igen Gelatinelösung) im Brutschrank 5, 24 oder 48 Stunden gestanden hatte, so begann schon eine geringe Fällung einzutreten, wenn in 10 ccm Flüssigkeit neben 1 ccm der 10%igen Gelatinelösung 0,1 ccm 5%iger Tanninlösung enthalten war. Der Niederschlag war stark bei 0,4 ccm Tanninlösung; die obere Fällungsgrenze lag bei 2,4, d. h. wenn 1 ccm der Gelatinelösung mit 6,6 Wasser und 2,4 ccm Tanninlösung versetzt worden war, so erzeugten am folgenden Tage 0,2 ccm Tanninlösung in 5 ccm des Filtrates keinen Niederschlag mehr.

Wurde die Gelatinelösung mit 0,25%iger Salzsäure in den Brutschrank gestellt, so lag die obere Fällungsgrenze nach 24stündiger Einwirkung der 0,25%igen Salzsäure für die neutralisierte Flüssigkeit noch an derselben Stelle, wie bei der reinen Gelatinelösung, und auch nach 48 Stunden war sie kaum verändert. Unter dem Einfluß von Pepsinsalzsäure, noch mehr unter dem Einfluß von Pankreatin rückte die obere Fällungsgrenze in die Höhe, d. h. es war eine immer größere Menge von Tannin erforderlich, um die durch Tannin fällbaren Substanzen völlig auszufällen.

Diese Verhältnisse werden durch die folgende Tabelle verdeutlicht, in der neben dem geprüften Gemisch angegeben ist, ob in 5 ccm des betreffenden Filtrates durch Tannin noch ein Niederschlag entstand oder nicht.

Tanninlösung 5%	Wasser	Verdauung mit Salzsäure 24h	Salzsäure 48h	Pepsin-Salzsäure 24h	Pepsin-Salzsäure 48h	Pankreatin 24h	Pankreatin 48h
0,1—2,6	8,9—6,4	+	+	+	+	+	+
2,8	6,2	0	+	+	+	+	+
3,0	6,0	0	0	+	+	+	+
3,2	5,8	0	0	0	+	+	+
3,4—3,6	5,6—5,4	0	0	0	+	+	+
3,8	5,2	0	0	0	0	0	+
4,0—4,8	5,0—4,2	0	0	0	0	0	+
5,0	4,0	0	0	0	0	0	0
5,2—6,0	3,8—3,0	0	0	0	0	0	0

Auch in diesen Versuchen ließen sich im Gegensatz zu den Beobachtungen von P. Mesernitzky verschiedene Fraktionen nicht erkennen. Ein weiterer Unterschied zwischen der Wirkung der Prodigiosusgelatinase einer- und der Pepsin- bzw. Pankreas-

wirkung andererseits besteht darin, daß bei ersterer die durch Tannin fällbaren Substanzen ganz verschwinden, bei letzteren aber nicht.

III. Bestimmung des durch Tannin fällbaren bzw. nicht fällbaren Stickstoffs.

Der Unterschied zwischen den verschiedenen Enzymen zeigt sich auch sehr deutlich, wenn man bestimmt, wieviel von dem in 100 ccm der Gelatinelösung enthaltenen Stickstoff nach einer bestimmten Zeit ihrer Einwirkung nicht mehr durch Tannin fällbar ist.

In den Versuchen der folgenden Tabelle wurde zum Ausfällen des Verdauungsgemisches die auf Grund der Fraktionierung berechnete Tanninmenge verwendet. Die benutzte Gelatinelösung enthielt in 100 ccm 1,502 g Stickstoff.

10 %ige Gelatinelösung steht in der Wärme	5h		24h		48h	
	mg Stickstoff im Tanninfiltrat					
	von 100 ccm	% des Gesamt-N	von 100 ccm	% des Gesamt-N	von 100 ccm	% des Gesamt-N
ohne Zusatz . .	31,6	2,1	31,6	2,1	39,6	2,6
mit 0,25 % Salzsäure	31,6	2,1	32,0	2,1	39,3	2,6
Pepsinsalzsäure	39,3	2,6	47,2	3,2	70,7	4,7
Salzs. Infus vom Schweinemagen	47,2	3,2	53,4	3,6	62,9	4,2
Pankreasextrakt	347,9	23,2	457,9	30,5	505,1	33,7
Pankreatin (Rhenania) . .	220,8	14,7	337,4	22,5	471,6	31,4
Pankreon (Rhenania) . .	337,9	22,5	613,1	40,9	707,4	47,2
Darmschleimhautextrakt .	32,8	2,2	39,6	2,6	46,8	3,2
Gemisch von Pankreas- und Darmschleimhautextrakt	253,4	16,7	414,0	27,6	528,0	35,2

Die Tabelle zeigt folgendes:

Wenn die Gelatine nur mit dem Antisepticum (Thymol) 5 Stunden in der Wärme steht, so bleiben nach der Fällung mit Tannin vom Gesamtstickstoff etwa 2 % in Lösung. Also etwa 98 % der käuflichen Gelatine sind durch Tannin fällbar.

Der nicht fällbare Stickstoff nimmt bei 48stündigem Stehen in der Wärme nur sehr wenig zu.

Durch 0,25%ige Salzsäure wurde die Menge des durch Tannin nicht fällbaren Stickstoffs nicht vermehrt. Pepsinsalzsäure bewirkte eine deutliche, aber mit der Zeit nur wenig zunehmende Steigerung. Ähnlich schwach wirkte auch der Extrakt der Darmschleimhaut. Dagegen wird durch das Pankreasferment innerhalb von 5 Stunden mehr als 20%, nach 24 Stunden 30 bis 40%, nach 48 Stunden etwa 47% des Gelatinestickstoffs in Verbindungen übergeführt, die durch Tannin nicht fällbar sind.

Aber auch diese Wirkung bleibt zurück hinter der von Mesernitzky bei Prodigiosus beobachteten, bei der allmählich bis 85% des Gesamtstickstoffs der Gelatine durch Tannin nicht fällbar wird.

IV. Verhalten der verdauten Gelatinelösung bei der Titrierung nach S. P. L. Sörensen.

Die Sörensensche Methode hatte sich bereits in den Versuchen von P. Mesernitzky als ein ebenso einfaches wie sicheres Hilfsmittel erwiesen, um die unter dem Einfluß der Prodigiosusgelatinase erfolgende Spaltung der Peptidbindungen der Gelatine zu verfolgen. Sie wurde deshalb auch verwendet, um festzustellen, wie sich die Aufspaltung der Gelatine unter dem Einfluß der Verdauungsfermente des Darmkanals gestaltet.

Vor Ausführung der Formylierung wurden die sauren Lösungen, in den Versuchen mit Salzsäure und Pepsinsalzsäure, mit $^1/_5$-Normalbarytlauge unter Anwendung von Phenolphthalein, die alkalischen, in den Versuchen mit Pankreas- und Darmschleimhautferment, mit $^1/_5$-Normalsalzsäure unter Anwendung von rotem Lackmoidpapier neutralisiert. Dann wurde neutrale Formollösung hinzugesetzt und durch Titrieren mit Barytlauge die für Phenolphthalein entsprechende Reaktion hergestellt und die Zunahme der Reaktion durch Vergleich mit der entsprechenden wässerigen Kontrollflüssigkeit ermittelt.

Schon die unverdaute Gelatinelösung bindet eine gewisse Menge von Formol. Die Zunahme der Reaktion entsprach für 5 ccm einer 10%igen Gelatinelösung nach 5 bis 48stündigem Stehen in der Wärme 1,05 bis 1,15 ccm $^1/_5$-Baryt-

lösung. Hiernach waren etwa 3 bis 4% des Gesamtstickstoffs formylierbar. Das Ergebnis, das bei Untersuchung der Verdauungsflüssigkeiten erhalten wurde, zeigt die folgende Tabelle. Die Zahlen beziehen sich auf 5 ccm des Verdauungsgemisches.

10%ige Gelatine steht in der Wärme mit	5 Stunden			24 Stunden			48 Stunden		
	Barytlösung	Amino-N		Barytlösung	Amino-N		Barytlösung	Amino-N	
	ccm	in 5 ccm	in % des Gesamt-N	ccm	in 5 ccm	in % des Gesamt-N	ccm	in 5 ccm	in % des Gesamt-N
0,25%iger Salzsäure	0,7	1,89	2,5	1,0	2,7	3,6	1,2	3,24	4,3
Pepsinsalzsäure . .	1,2	3,24	4,3	1,3	3,51	4,6	1,6	4,32	5,7
Salzs. Inf. v. Schweinemagen	1,2	3,24	4,3	1,4	3,78	5,0	1,5	4,05	5,4
Pankreasextrakt . .	3,7	9,99	13,3	4,4	11,88	15,8	4,6	12,42	16,5
Pankreatin (Rhenania)	3,0	8,10	10,8	3,5	9,45	12,6	3,9	10,53	14,0
Pankreon (Rhenania)	3,8	10,26	13,6	5,1	13,77	18,3	5,8	15,66	20,8
Darmschleimhautextrakt	1,1	2,97	3,9	1,3	3,51	4,6	1,4	3,78	5,0
Pankreas- und Darmschleimhautextrakt	3,3	8,91	11,8	4,1	11,07	14,7	4,7	12,69	16,9

Wie man sieht, vermag 0,25%ige Salzsäure bei Bruttemperatur die Peptidbindungen nicht zu lösen. Die Zahlen für den Aminostickstoff sind ungefähr dieselben wie für die Gelatinelösung, die ohne Zusatz gestanden hatte.

Pepsinsalzsäure bewirkt eine geringe, mit der Dauer der Wirkung langsam fortschreitende Peptidspaltung; ähnlich schwach wirkt auch das Extrakt der Darmschleimhaut. Dahingegen zeigt das Pankreasextrakt eine sehr energische Wirkung.

Vergleicht man aber die Menge des formylierbaren Stickstoffs mit der Gesamtmenge des Stickstoffs, so ergibt sich, daß auch nach Einwirkung des sehr wirksamen Pankreas höchstens etwa 20% des Gelatinestickstoffs nach 48 Stunden formylierbar sind.

Von denjenigen Substanzen, die den formylierbaren Stickstoff enthalten, sind die Aminosäuren und gewisse einfache Peptide durch Tannin nicht fällbar. Es ist deshalb für weitere Untersuchungen nicht ohne Interesse, die Menge des formylierbaren Stickstoffs mit der Menge des durch Tannin nicht fällbaren Stickstoffs zu vergleichen.

Zu diesem Zwecke stellen wir noch einmal aus den bereits angeführten Tabellen die entsprechenden Zahlen nebeneinander.

Gelatine mit	Von 100 g Gesamt-N sind enthalten nach					
	5 Stunden im		24 Stunden im		48 Stunden im	
	Tannin-filtrat-N	Amino-N	Tannin-filtrat-N	Amino-N	Tannin-filtrat-N	Amino-N
0,25 %iger Salzsäure .	2,1	2,5	2,1	3,6	2,6	4,3
Pepsinsalzsäure . . .	2,6	4,3	3,2	4,6	4,7	5,7
Salzs. Inf. v. Schweinemagen	3,2	4,3	3,6	5,0	4,2	5,4
Pankreasextrakt . . .	23,2	13,3	30,5	15,8	33,7	16,5
Pankreatin (Rhenania)	14,7	10,8	22,5	12,6	31,4	14,0
Pankreon (Renania) .	22,5	13,6	40,9	18,3	47,2	20,8
Darmschleimhaut . .	2,2	3,9	2,6	4,6	3,2	5,0

Nach Einwirkung von 0,25 %iger Salzsäure — und ebenso in der ohne Zusatz digerierten Gelatinelösung — ist die Menge des Aminostickstoffs etwas größer als die des Stickstoffs im Tanninfiltrat. Man kann hieraus nur schließen, daß die durch Tannin fällbaren Anteile der Gelatine formylierbaren Stickstoff enthalten. Dasselbe gilt für die Produkte, die bei der Verdauung mit Pepsinsalzsäure und bei der Digestion mit dem Extrakt der Darmschleimhaut entstehen. Wieviel von dem Aminostickstoff auf die durch Tannin nicht fällbaren Produkte kommt, läßt sich zunächst noch nicht sagen. Beim Pankreas ist die Menge des Stickstoffs im Tanninfiltrat größer, als die des Aminostickstoffs. Das heißt: selbst wenn aller Aminostickstoff in das Tanninfiltrat überginge, so wäre ein Teil des Stickstoffs im Tanninfiltrat nicht formylierbar. Zu den nur unvollkommen formylierbaren Substanzen gehört das Prolin. Seine Menge ist aber wohl kaum groß genug, um den Unterschied zwischen Gesamtstickstoff und Aminostickstoff des Tanninfiltrats zu erklären. Es ist vielmehr wahrscheinlich, daß neben Aminosäuren u. a. durch das Pankreasferment aus der Gelatine auch Peptide mit nicht formylierbarem Stickstoff entstehen, die durch Tannin nicht fällbar sind.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch P. Mesernitzky in bezug auf die Produkte, die durch die M. prodigiosus aus der Gelatine gebildet werden.

V. Versuche zur Gewinnung der krystallinischen Produkte, die durch das Pankreasferment aus der Gelatine entstehen.

Bevor ich meine eigenen Versuche beschreibe, sei kurz auf die Angaben eingegangen, die bereits über die Bildung von krystallinischen Produkten aus der Gelatine durch die Pankreasverdauung vorliegen.

Im Laboratorium von Thierfelder zeigten F. Reiche-Herzberge[1]), daß aus der Gelatine bei der Verdauung mit Trypsin E. Merck sehr geringe Mengen Leucin entstehen, aus 50 g Gelatine in keinem Falle mehr als einige Zehntelgramm. Auf „andere Amino- und Diaminosäuren, die jedenfalls auch, aber in sehr geringer Menge entstanden sein werden", wurde nicht geprüft. Gegen die Beweiskraft des Versuches könnte man vielleicht einwenden, daß zur Abscheidung der nicht krystallisierenden Produkte die Fällung mit Phosphorwolframsäure aus einer 5% Schwefelsäure enthaltenden Lösung benutzt wurde und daß die Phosphorwolframsäure durch einen Überschuß von Baryt entfernt werden mußte. Es wäre wohl denkbar, daß jene sehr kleinen Mengen von Leucin unter dem Einfluß dieser Reagenzien durch Hydrolyse aus Peptiden entstanden wären.

Das gleiche Bedenken gilt gegenüber den Versuchen von P. A. Levene[2]). Bei ihm kommt aber noch ein weiteres hinzu. Nachdem das Filtrat des Phosphorwolframsäureniederschlages „auf übliche Weise von der Säure befreit worden war, wurde zur Trockne verdampft und nach Fischers Verfahren mit Salzsäure und absolutem Alkohol verestert .... Nach dreimaligem Verestern erstarrte die Lösung durch die Ausscheidung von salzsaurem Glykokollester". Aus dem Filtrat des Glykokollesters wurde Leucin erhalten, die Anwesenheit von Phenylalanin wahrscheinlich gemacht und auch kleine Mengen Glutaminsäure gefunden. Ich halte es für wahrscheinlich, daß mindestens die Hauptmenge des gefundenen Glykokolls erst bei der Veresterung durch Spaltung von Peptiden entstand.

Aus dem Phosphorwolframsäureniederschlage erhielt Levene ein Kupfersalz von der Zusammensetzung der α-Pyrrolidincarbon-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 111, 1901.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 8 und 99, 1904.

säure, das beim Erhitzen Pyrrol lieferte, von dem er aber zunächst selbst im Zweifel war, ob es Pyrrolidincarbonsäure sei. Auf Grund späterer Versuche nahm er an, daß bei der tryptischen Verdauung inaktives α-Prolin entsteht[1]). Außer Glykokoll, Leucin und Prolin bildet sich nach Levene auch Prolylglycinanhydrid, das er ebenfalls im Phosphorwolframniederschlage fand.

Da die zur Isolierung der Verdauungsprodukte, besonders die von Levene angewendete Methode umständlich und nicht einwandsfrei erschien, versuchte ich auf folgendem Wege die durch Trypsin aus der Gelatine entstehenden krystallinischen Verdauungsprodukte zu gewinnen.

1 kg Gelatine wurde in 10 l Wasser gelöst, die Lösung wurde mit 25 g Natriumbicarbonat, 50 g Pankreatin (Rhenania) und 50 ccm einer 10%igen Thymollösung versetzt und in dem Brutschrank bei etwa 78° C stehen gelassen. Nach 10 Tagen wurden weitere 25 g Pankreatin hinzugefügt.

Nach 23 Tagen wurde die Flüssigkeit unter Anwendung von rotem Lackmoidpapier mit verdünnter Salzsäure neutralisiert und auf dem Wasserbade zum dicken Sirup eingedampft. Dieser wurde unter gutem Umrühren allmählich mit 1 l Alkohol versetzt. Die alkoholische Lösung wurde abgegossen. Der in Alkohol unlösliche Anteil wurde auf dem Wasserbade wieder in 150 ccm Wasser gelöst, mit 1 l Alkohol versetzt, der Alkohol abgegossen, der Rückstand noch einmal in 150 ccm Wasser gelöst und zum dritten Male mit 1 l Alkohol gefällt. Zur weiteren Verarbeitung gelangten vorläufig nur die Alkoholextrakte.

Die vereinigten Alkoholextrakte wurden im Vakuum bis zum Sirup abdestilliert und bis zum folgendem Tage in der Kälte stehen gelassen. Hierbei schieden sich aus der sirupösen Flüssigkeit feinflockige feste Massen aus, die sich durch Abnutschen und Trocknen auf Tonteller von der Mutterlauge trennen ließen. Sie betrugen etwa 28 g. Nach dem Trocknen an der Luft stellten die Massen ein grauweißes Pulver dar.

Als eine kleine Probe von ihm im Reagensglase trocken erhitzt wurde, bildete sich ein Sublimat, darunter ein Öl. Es verbreitete sich ein Geruch teils nach „Amylamin", teils nach Tabak. Ein mit Salzsäure befeuchteter Fichtenspan wurde rot gefärbt.

10 g dieser Substanz wurden in 100 ccm Wasser gelöst und mit einem Überschuß von frisch gefälltem Kupferhydroxyd erhitzt.

a) Die in Wasser unlöslichen Kupferverbindungen wurden abfiltriert, gründlich mit heißem Wasser gewaschen, in Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Schwefelkupfer

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 143, 1906; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2060, 1906; 43, 3168, 1910.

wurde zur Trockne verdampft. Hierbei blieb ein Rückstand von etwa 2,5 g, der in 50 ccm Wasser gelöst wurde. Die Lösung wurde nach Zusatz von Schwefelsäure mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Am folgenden Tage wurde filtriert. Die Verarbeitung des verhältnismäßig geringen Niederschlages führte zu keinen gut charakterisierbaren Produkten. Aus dem Filtrat wurde mittels Baryt die Schwefelsäure und durch Einleiten von Kohlensäure der überschüssige Baryt entfernt. Die sich ausscheidenden Massen wurden in 2 Fraktionen gesammelt, die sich als identisch erwiesen. Sie wurden in wenig Wasser gelöst und mit einer gesättigten Kupferacetatlösung gekocht. Es schied sich in sehr reichlicher Menge ein blauer Kupferniederschlag ab,

für Leucinkupfer berechnet . . .	19,6 % Cu	8,65 % N
1. Fraktion, gefunden	20,16 % Cu	8,82 % N
2. „ „	20,4 % Cu	8,09 % N

Die aus dem Kupfersalz erhaltene Substanz begann bei 270 bis 280° sich zu zersetzen und war gegen 300° fast vollkommen zersetzt. Sie drehte links, in wässeriger Lösung war $[\alpha]_D^{22} = -10°$. Der Stickstoffgehalt wurde zu 10,6% gefunden (für Leucin ber. 10,6% N). Die in Wasser unlösliche Kupferverbindung bestand also wesentlich aus l-Leucin.

b) Das Filtrat der in Wasser unlöslichen Kupferverbindungen wurde etwas eingeengt und mit Alkohol gefällt. Hierbei entstand ein Niederschlag, der abfiltriert und mit Alkohol gewaschen wurde.

α) Die in Alkohol unlöslichen Kupferverbindungen wurden in Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Schwefelkupfer wurde zum Sirup eingedampft und mit Alkohol extrahiert. Der hierbei erhaltene in Alkohol unlösliche, sowie der in Alkohol lösliche Teil wurden esterifiziert. Es wurden aber keine krystallisierenden Esterchlorhydrate erhalten. Glykokoll war also nicht nachweisbar.

β) Das Filtrat von α wurde in Vakuum vorsichtig zum Sirup eingedampft. Der Rückstand, also die in Alkohol löslichen Kupferverbindungen wurden in Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff entkupfert.

Aus dem Filtrat des Schwefelkupfers wurde nach dem Einengen beim Stehen in der Kälte eine reichliche Krystallisation erhalten.

Diese wurde durch Erhitzen mit Kupferhydroxyd wieder in die Kupferverbindung übergeführt. Sie erwies sich als l-Prolin.

Für Prolinkupfer berechnet	21,1 % Cu	9,1 % N
gefunden	20,3 % Cu	9,6 % N

Die aus der Kupferverbindung gewonnene Substanz enthielt 12,4% N (für Prolin berechnet 12,1%), sie fing bei 220° zu schmelzen an und war bei 235° vollkommen zersetzt. Das Drehungsvermögen wurde in wässeriger Lösung zu $[\alpha]_D^{22°} = -80°$ gefunden.

Es wurde nun weiter auch die sirupöse Mutterlauge des Alkoholextraktes, aus der sich das Gemenge von Leucin und l-Prolin ab-

geschieden hatte, mittels der Estermethode auf Glykokoll untersucht. Es gelang aber auch hier nicht, freies Glykokoll nachzuweisen.

Das Ergebnis dieses Versuchs ist, daß bei der Zersetzung der Gelatine durch die Pankreasgelatinase, wie bereits Reiche-Herzberge fand, geringe Mengen Leucin entstehen, und zwar nach meiner Beobachtung das l-Leucin.

Auch die Angabe Levenes, über das Vorkommen von Prolin konnte ich bestätigten. Meine Methode schließt die Möglichkeit einer sekundären Entstehung aus; auch fand ich in Widerspruch mit Levene, daß das Prolin nicht optisch inaktiv, sondern linksdrehend, also l-Prolin ist.

Im Gegensatze zu Levene war ich nicht imstande freies Glykokoll nachzuweisen, und muß es bis auf weiteres für wahrscheinlich halten, daß die verhältnismäßig großen Mengen Glykokoll, die Levene fand, erst bei der Veresterung durch Zersetzung von Peptiden entstanden sind.

Dieses Fehlen von Glykokoll ist besonders bemerkenswert mit Rücksicht darauf, daß P. Mesernitzky bei der Zersetzung der Gelatine durch Prodigiosusgelatinase stets nicht unbeträchtliche Mengen von Glykokoll fand. —

Als wesentliche Resultate meiner Versuche betrachte ich die folgenden:

Durch die Pepsinsalzsäure und den Extrakt der Dünndarmschleimhaut findet nur eine geringe Aufspaltung der Gelatine statt.

Die Einwirkung des Pankreasextraktes ist bei weitem stärker. Die Peptidbindungen werden in großer Zahl gelöst. Hierbei entstehen anscheinend durch Tannin nicht fällbare Peptide. Von krystallinischen Produkten, die in wasserhaltigem Alkohol löslich sind, bilden sich geringe Mengen l-Leucin und l-Prolin. Glykokoll ließ sich nicht nachweisen.

Das Fehlen des Glykokolls und auch andere der mitgeteilten Beobachtungen zeigen, daß die Pankreasgelatinase von der Prodigiosusgelatinase verschieden ist.

Einige Versuche über die Resorption der Gelatine im Dünndarm.

Von

D. Minami.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Breslau.)

(Eingegangen am 3. Juni 1911.)

Durch die Stoffwechselversuche, die seit den bekannten Versuchen C. Voits wiederholt auch von anderen Forschern angestellt worden sind, sowie durch Beobachtungen von E. S. London[1]) an einem Hunde mit Dünndarm- bzw. Ileocoecalfistel, ist der Nachweis geliefert worden, daß der Leim bei seinem Durchgange durch den Darmkanal vollkommen aufgesaugt wird. Über die Art und Weise, wie dies geschieht, liegen aber meines Wissens bisher keine Versuche vor.

Hier schien es nun von Wert zu untersuchen, ob der Leim, um aufsaugungsfähig zu werden, vorher der Einwirkung der Verdauungsenzyme unterliegen muß, und weiter, ob die Aufsaugungsgeschwindigkeit in den verschiedenen Teilen des Dünndarms in einer Beziehung zu der Art der vorhergehenden fermentativen Spaltung steht. Der Beantwortung dieser Fragen dienen die folgenden Versuche, die ich auf Veranlassung von Prof. F. Röhmann ausführte und leider aus äußeren Gründen abbrechen mußte.

Die Versuche wurden an narkotisierten Hunden von 22 bis 23 kg Körpergewicht angestellt. Die zu untersuchende Flüssigkeit wurde angewärmt und eine bestimmte Menge jedesmal in eine Schlinge des oberen und unteren Teiles des Dünndarms gebracht. Die Schlinge wurde versenkt, der Bauch wurde geschlossen und der Hund mit Tüchern bedeckt, um ihn gegen

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 380, 1908.

Abkühlung zu schützen. Nach 1 Stunde wurde die nicht resorbierte Flüssigkeit entleert und der Darm mit warmer 0,6%iger Kochsalzlösung ausgespült. In der eingefüllten sowie in der aus dem Darm herausgelassenen, mit dem Waschwasser vereinigten Flüssigkeit wurde der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt. Es kamen zur Untersuchung 1. eine wässerige Lösung von Gelatine, 2. eine Gelatinelösung, die mit Pepsinsalzsäure einen Tag verdaut und dann mit Soda neutralisiert worden war, 3. eine Gelatinelösung, die mit Pankreon (Rhenania) bei Gegenwart von 0,25% Natriumbicarbonat verdaut worden war. Das Ergebnis der Versuche ist in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Versuch	Verwendete Lösung	Länge der Dünndarmschlinge cm	Stickstoff eingefüllt mg	Stickstoff entleert mg	Stickstoff aufgesaugt mg	Stickstoff aufgesaugt %
1	50 ccm 2% Gelatine unverdaut	oben 30	136,1	129,1	7,0	5,1
	50 „ 2 „ „ „	unten 40	136,1	136,5	—	0,0
2	45 „ 2 „ „ mit Pepsinsalzsäure verdaut	oben 40	128,2	64,1	64,1	50,1
	60 „ 2 „ do.	unten 50	171,0	83,1	87,9	48,6
	60 „ 5 „ do.	oben 35	403,8	257,4	146,4	38,7
	50 „ 5 „ do.	unten 40	269,2	171,1	98,1	36,4
3	34 „ 2 „ Gelatine mit Pankreon verdaut . .	oben 30	105,3	27,3	78,0	74,3
	75 „ 2 „ do.	unten 35	170,4	54,1	116,3	68
4	40 „ 10 „ do.	oben 35	550,4	145,5	405,0	73,5
	50 „ 10 „ do.	unten 45	688,0	297,0	391,0	56,8

Die Versuche zeigen, daß eine rein wässerige Gelatinelösung im Dünndarm nicht oder nur äußerst wenig resorbiert wird.

Eine zuvor mit Pepsinsalzsäure behandelte Gelatinelösung wird resorbiert.

Die mit Pankreas verdaute Gelatinelösung wird schnell und anscheinend schneller als die mit Pepsinsalzsäure verdaute Lösung aufgesaugt. Ein Unterschied im Resorptionsvermögen des oberen und unteren Teiles des Dünndarms ließ sich in diesen Versuchen nicht erkennen. Die Angabe von E. S. London, daß „bei Leimverfütterung sich die Resorption hauptsächlich in den tieferen Teilen des Dünndarms abspielt", bedarf der Nachprüfung.

Wirkung des Trypsins auf die verschiedenen Oxydationsvorgänge in den Tiergeweben.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 12. Juni 1911.)

I.

In mehreren früheren Arbeiten haben wir die Ansicht entwickelt, daß die in den Tiergeweben stattfindenden Oxydationen nicht durch einen einzigen Oxydationsprozeß bewirkt werden, sondern daß es im Gegenteil in den Tiergeweben recht verschiedene Oxydationsprozesse gibt. Die Resultate unserer diesbezüglichen Untersuchungen sind in einer jüngst erschienenen Arbeit[1]) zusammengefaßt.

Wir wollen hier ausschließlich diejenigen Oxydationsprozesse in Betracht ziehen, die eine genügende Intensität aufweisen, um eine merkliche Sauerstoffaufnahme zu bewirken.

Hierher gehören vor allem die Oxydationen, die in den Geweben selbst ohne Zusatz fremder Substanzen vor sich gehen. Die Tiergewebe weisen bekanntlich zwei voneinander ganz verschiedene Atmungsprozesse auf, die wir als Haupt- und akzessorische Atmung bezeichnet haben. Die Hauptatmung kann nur in Gegenwart von Zellen stattfinden und nimmt mit abnehmender Vitalität der Zellen ab. Die akzessorische Atmung hingegen kann auch in Abwesenheit von Zellen stattfinden; so geht sie zum Beispiel auch in den durch mehrere Volumen Alkohol behandelten Geweben, sowie auch im klaren, wässerigen Auszuge dieses Alkoholniederschlages vor sich.

---

[1]) **Battelli und Stern**, Die Oxydation der Citronen-, Apfel- und Fumarsäure durch Tiergewebe. Diese Zeitschr. 31, 478, 1911.

Es gibt außerdem eine gewisse Anzahl von Substanzen, die unter dem Einflusse der Tiergewebe sehr energisch oxydiert werden können. Die hier in Betracht kommenden Oxydationsprozesse sind ebenfalls verschiedener Art. Hierher gehört vor allem die Wirkung der verschiedenen Oxydasen. Die Harnsäure wird durch die Urikoxydase (oder Urikase) zu Allantoin oxydiert; der Alkohol wird durch die Alkoholoxydase zu Aldehyd und Esigsäure oxydiert. Die Urikoxydase und die Alkoholoxydase weisen die allgemeinen Enzymeigenschaften auf; sie sind in Wasser löslich, können durch Alkohol oder Aceton gefällt werden usw.

Die Bernsteinsäure wird durch alle Tiergewebe zu Apfelsäure oxydiert. Die diese Oxydation bewirkenden Körper können nicht durch Wasser extrahiert werden, sondern bleiben an den in Wasser unlöslichen Teilen der Gewebe haften; wiederholtes und längeres Auswaschen der Gewebe durch Wasser vermindert nicht die Oxydationswirkung derselben gegenüber der Bernsteinsäure. Durch Behandlung mit Alkohol verlieren hingegen die Gewebe diese Fähigkeit.

Die Citronen-, Apfel- und Fumarsäure werden durch die Gewebe vollständig zu Wasser und Kohlensäure verbrannt. Die diese Oxydation bewirkenden Körper gehen nicht in den wässerigen Auszug der Gewebe über und bleiben an den unlöslichen Teilen der Gewebe haften; aber ein mehrmaliges Auswaschen mit Wasser vernichtet völlig die Oxydationsfähigkeit der Gewebe gegenüber diesen eben genannten Säuren. In einigen Geweben verschwindet diese Oxydationsfähigkeit sehr schnell nach dem Tode des Tieres und weist in der Beziehung eine große Analogie mit der Hauptatmung auf. Durch Alkoholbehandlung wird diese Oxydationsfähigkeit völlig vernichtet.

Die verschiedenen hier angeführten Oxydationsprozesse können in zwei Hauptgruppen geteilt werden.

Zur ersten Gruppe gehören diejenigen Oxydationen, die bei Abwesenheit von Zellen vor sich gehen können. Die diesen Oxydationen zugrunde liegenden Substanzen sind in Wasser löslich und werden durch Alkoholbehandlung nicht vernichtet; sie weisen die Eigenschaften der gewöhnlichen Oxydationsfermente auf. Zu dieser Gruppe sind die akzessorische Atmung, die Urikoxydase und die Alkoholoxydase zu rechnen.

Zur zweiten Gruppe gehören die Oxydationsprozesse, die untereinander recht deutliche Unterschiede aufweisen, aber den gemeinsamen Charakter haben, in Abwesenheit von Zellen nicht wirken zu können und durch Alkoholbehandlung vernichtet zu werden. Die Substanzen, die diesen Prozessen zugrunde liegen, haben nicht die Eigenschaften der gewöhnlichen Oxydationsfermente. Zu dieser Gruppe gehören die Prozesse, die die Hauptatmung sowie die Oxydation der Citronensäure und die Oxydation der Bernsteinsäure bewirken.

Es schien uns von Interesse, den Einfluß zu untersuchen, den eine proteolytisch wirkende und somit die Struktur der Zelle vernichtende Substanz auf die verschiedenen Oxydationsvorgänge ausübt. Wir haben zu dem Zweck das Trypsin gewählt, weil es in neutralem oder alkalischem Medium wirkt.

Soweit uns bekannt ist, hat bisher niemand ähnliche Untersuchungen ausgeführt.

II. Methode.

Allgemeine Methode. Die allgemeine Methode ist dieselbe, die wir in unseren früheren Untersuchungen über die Gewebeatmung, die Urikoxydase, die Alkoholoxydase usw. benutzt haben. Die Gewebesuspension wird in eine große Flasche gebracht und in einer Sauerstoffatmosphäre energisch geschüttelt. Eine Flasche dient als Kontrollprobe. In die andere Flasche wird das Trypsin hineingebracht. Während der ganzen Versuchsdauer tauchen die Flaschen in das Wasser eines Thermostaten. Am Ende des Versuchs wird die aufgenommene Sauerstoffmenge und die produzierte Kohlensäuremenge nach den üblichen Methoden berechnet.

Zubereitung der Gewebe. Die Wahl und die Zubereitung der Gewebe sind je nach dem zu untersuchenden Oxydationsprozesse verschieden. Wir werden darauf in den entsprechenden Abschnitten zurückkommen.

Das Trypsin. Wir haben das durch doppelte Alkoholfällung des Pankreasauszuges des Rindes erhaltene Trypsin benutzt. 1 g dieses Trypsinpräparates konnte im Laufe einer Stunde bei 38° und in Gegenwart von 4:1000 Na_2CO_3 ungefähr 10 g Fibrin verdauen.

III. Wirkung des Trypsins auf die Hauptatmung der Gewebe.

Die Gewebe, die sich für das Studium der Hauptatmung am besten eignen, sind die Muskeln des Rindes oder des Pferdes, die Niere des Rindes und die Leber des Hundes, wie wir es in einer früheren Arbeit[1]) hervorgehoben haben. Die Muskeln des Rindes oder des Pferdes können

---

[1]) Diese Zeitschrift 32, 1911.

sehr gut 2 bis 3 Stunden nach dem Tode des Tieres benutzt werden. Die Leber des Hundes wird unmittelbar nach dem Tode des Tieres entnommen. Die Niere des Rindes kann 1½ bis 2 Stunden nach dem Tode des Tieres benutzt werden, muß aber mit Pnein (wässeriger Muskelauszug z. B.) versetzt werden.

Die Alkalinität der Flüssigkeit, die zur Erzielung des maximalen Gaswechsels nötig ist, wird durch Na_2CO_3 in einer Gesamtkonzentration von 4 : 1000 oder durch NaOH in einer Gesamtkonzentration von 1 : 1500 und amphoteres Natriumphosphat in einer Konzentration von 1 : 1000 P_2O_5 erzielt. Bei der Berechnung dieser Konzentrationen wurde 1 g Gewebe als gleichwertig mit 1 ccm Flüssigkeit betrachtet.

In der Tabelle I stellen wir die Resultate einiger typischer Versuche zusammen. In all diesen Versuchen betrug die Menge des Gewebes 50 g und die Menge der Flüssigkeit 130 ccm. Die Muskeln des Pferdes und des Rindes sowie die Leber des Hundes sind ohne weiteres benutzt worden. Von den 130 ccm Flüssigkeit, in die die Rinderniere suspendiert wurde, sind 100 ccm durch wässerigen Muskelauszug von Rind ersetzt, der durch Zusatz von 2 Volumen Wasser zum zerriebenen Muskel bereitet wurde.

Tabelle I.

Einfluß des Trypsins auf die Hauptatmung der Gewebe. Der Muskel und die Leber wurden ohne weiteren Zusatz benutzt, die Niere wurde mit 100 ccm wässerigen Muskelauszuges versetzt. Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten und die Temperatur des Thermostaten 40°. Die Flaschen sind mit Sauerstoff gefüllt.

Gewebe 50 g	Trypsin g	Aufgenommener Sauerstoff ccm	Entwickelte Kohlensäure ccm
Muskel von Rind	00	97	104
idem	0,10	81	90
idem	0,20	59	74
idem	0,50	38	59
idem	1	34	56
Leber von Hund	00	86	84
idem	0,20	68	71
idem	0,50	47	55
idem	1	38	48
Niere von Rind	00	112	123
idem	0,10	98	115
idem	0.20	79	102
idem	0,50	53	85
idem	1,0	44	78

Die in Tabelle I angeführten Versuchsresultate zeigen deutlich, daß das Trypsin den Gaswechsel der Hauptatmung der Gewebe stark herabsetzt. 0,10 g Trypsin genügen bereits, um die Atmungstätigkeit deutlich zu vermindern. Mit steigender Trypsinmenge wird die Intensität des Gaswechsels geringer.

Das vorher bei Siedetemperatur erhitzte Trypsin hat keinerlei Wirkung auf die Intensität des Gaswechsels.

Wir haben auch den Versuch gemacht, ob man durch die Einwirkung von Trypsin auf das Muskelgewebe eine Flüssigkeit erhalten könnte, die eine gewisse Atmungstätigkeit aufweist. Zu dem Zweck wurden 50 g Rinder- oder Pferdemuskel mit 150 ccm gewöhnlichen oder leicht alkalischen Wassers versetzt und der Wirkung wechselnder Trypsinmengen (0,20 g, 0,50 g oder 1,0 g) bei einer Temperatur von 38° während $^1/_2$ Stunde ausgesetzt. Das Gemenge wurde sodann durch ein Tuch ausgepreßt. Der flüssige Teil wurde zentrifugiert und darauf abgehoben. Man erhält auf diese Weise eine trübe Flüssigkeit, die beim Schütteln in einer Sauerstoffatmosphäre und bei einer Temperatur von 38° keine oder fast keine Atmungsfähigkeit aufweist.

Wir müssen hieraus schließen, daß in dem Maße, wie die Gewebe durch Trypsin verdaut werden, sie die Hauptatmung einbüßen. Der in der Hauptatmung wirkende Prozeß findet sich in den durch das Trypsin gelösten Teilen nicht wieder.

IV. Wirkung des Trypsins auf die Bernsteinsäureoxydation.

Die Oxydation der Bernsteinsäure durch die Tiergewebe eignet sich vorzüglich für das Studium der Trypsinwirkung, sei es, weil diese Oxydation eine große Intensität aufweist, sei es auch, weil der diese Oxydation bewirkende Prozeß durch längere Einwirkung von Wasser nicht abgeschwächt wird.

Die Methoden, um die Bernsteinsäureoxydation unter den günstigsten Bedingungen untersuchen zu können, sind verschieden, je nachdem es sich um Muskeln oder um andere Gewebe handelt. Bei Verwendung von Muskelgewebe ist es vorteilhaft, durch mehrmaliges und längeres Auswaschen mit Wasser des zerriebenen Muskels den Gaswechsel desselben völlig aufzuheben. Der auf diese Weise erhaltene Muskelrückstand hat keinen eigenen Gaswechsel mehr, hat aber die Fähigkeit bewahrt, Bernsteinsäure zu oxydieren. Handelt es sich um andere Gewebe, so empfiehlt es sich, abzuwarten, bis die Hauptatmung verschwunden ist, was gewöhnlich der Fall ist, wenn die Gewebe einige Stunden nach dem Tode des Tieres zur Verwendung kommen. Die Gewebe, die die größte Oxydationsenergie in bezug auf die Bernsteinsäure aufweisen, sind die Muskeln von Rind, Pferd, Hund und Hammel, sowie die Leber und die Niere dieser verschiedenen Tiere, wie wir es in einer früheren Arbeit[1]) gezeigt haben.

---

[1]) **Battelli und Stern**, Die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe. Diese Zeitschr. 30, 172, 1911.

In der Tabelle II stellen wir die Resultate zweier typischer Versuche zusammen. Die Bernsteinsäure wird unter Sauerstoffaufnahme zu Apfelsäure oxydiert. Eine Kohlensäurebildung findet hierbei nicht statt, und aus dem Grunde unterlassen wir es, die Kohlensäurewerte hier anzuführen. In diesen Versuchen besteht die Flüssigkeit, in der das Gewebe suspendiert ist, aus gewöhnlichem Wasser. Es ist überflüssig, dasselbe alkalisch zu machen.

Tabelle II.

Einfluß des Trypsins auf die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe. Die Leber wurde ohne jede weitere Vorbehandlung benutzt, und zwar 6 Stunden nach dem Tode des Tieres. Der Muskel wurde 3mal mit Wasser ausgewaschen. Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten; die Temperatur des Thermostaten 40°; die Flaschen sind mit reinem Sauerstoff gefüllt.

Gewebe 50 g	Bernsteinsaures Na g	Trypsin g	Aufgenommener Sauerstoff ccm
Muskel von Pferd (gewaschener Rückstand)	00	00	2
idem	3	00	103
idem	3	0,10	82
idem	3	0,20	70
idem	3	0,50	55
idem	3	1,0	41
idem	3	2,0	29
Leber von Rind	00	00	27
idem	00	1,0	26
idem	3	00	110
idem	3	0,10	88
idem	3	0,20	69
idem	3	0,50	61
idem	3	1,0	48
idem	3	2,0	36

Aus den in dieser Tabelle angeführten Versuchsergebnissen ersieht man sehr deutlich, daß das Trypsin die Bernsteinsäureoxydation durch die Tiergewebe vermindert.

Wir haben anderseits gefunden, daß die durch Trypsinverdauung des Muskels erhaltene Flüssigkeit keine merkliche respiratorische Tätigkeit aufweist. Ähnliche Versuche haben wir auch in bezug auf die Bernsteinsäureoxydation angestellt. Der zerriebene Muskel von Rind oder Pferd wurde mehrmals mit Wasser ausgewaschen. 50 g des auf diese Weise bereiteten Muskelrückstandes wurden mit 200 ccm Wasser versetzt und der Einwirkung von 0,50 g oder 1 g Trypsin bei einer Temperatur von 38° während $^1/_2$ Stunde ausgesetzt. Das Gemenge wurde

sodann durch ein Leinwandtuch gepreßt. Man erhielt auf diese Weise einen Rückstand und einen flüssigen Teil.

Der flüssige Teil wurde zentrifugiert. Die abgehobene Flüssigkeit ist trübe. Die Oxydationswirkung derselben auf Bernsteinsäure ist gleich Null.

Der zurückgebliebene feste Teil kann noch Bernsteinsäure oxydieren, aber diese Oxydationswirkung ist bedeutend geschwächt. Das Gewicht des Rückstandes hat natürlich stark abgenommen infolge der durch das Trypsin verursachten Verdauung. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß in dem Maße, wie die Gewebe durch das Trypsin verdaut werden, sie die Fähigkeit, Bernsteinsäure zu oxydieren, einbüßen. Die Teile, die in Lösung gehen, besitzen kein Oxydationsvermögen gegenüber Bernsteinsäure.

In unserer Arbeit über die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe[1]) haben wir darauf hingewiesen, daß alle daraufhin untersuchten Gewebe 24 Stunden lang und noch mehr die Fähigkeit bewahren, Bernsteinsäure zu oxydieren. Nur das Pankreas bildet hiervon eine Ausnahme. 24 Stunden nach dem Tode des Tieres ist die Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch das Pankreas sehr gering. Dieser Verlust des Oxydationsvermögens muß natürlich der Wirkung des Trypsins zugeschrieben werden, das sich im Pankreas nach und nach, infolge der Umwandlung des Zymogens in aktives Ferment, anhäuft.

V. Wirkung des Trypsins auf die Oxydation der Citronensäure durch Tiergewebe.

Die Versuche, betreffend den Einfluß des Trypsins auf die Citronensäureoxydation durch Tiergewebe, haben etwas weniger deutliche Resultate geliefert, als die bei der Bernsteinsäureoxydation erzielten. In der Tat kann die Citronensäureoxydation nur dann stattfinden, wenn das Gewebe noch seine Hauptatmung besitzt. Das hinzugefügte Trypsin setzt den Gaswechsel der Hauptatmung und zugleich auch den durch die Citronensäureverbrennung bedingten Gaswachsel herab. Die Folge davon ist, daß in einigen Versuchen der Einfluß des Trypsins auf die Oxydation der Citronensäure zweifelhaft erscheint, doch tritt in der Mehrzahl der Versuche dieser Einfluß deutlich zutage.

Die für das Studium der Citronensäureoxydation geeignetsten Gewebe sind dieselben, die in den Untersuchungen über die Hauptatmung

---

[1]) l. c.

benutzt wurden. In einer früheren Arbeit[1]) haben wir gezeigt, daß die Oxydation der Citronensäure am besten in neutralem Medium beobachtet werden kann.

Wir wollen hier das Resultat eines typischen Versuches anführen, worin die Dauer des Schüttelns 30 Minuten betrug, die Temperatur des Thermostaten 40° und die Flaschen mit reinem Sauerstoff gefüllt waren. Jede Flasche enthält 50 g Gewebe und 130 ccm Wasser.

Gewebe	Citronensaures Na g	Trypsin g	Aufgenommener Sauerstoff ccm	Entwickelte Kohlensäure ccm
Muskel von Rind	00	00	32	46
idem	0,75	00	57	81
idem	00	0,50	23	39
idem	0,75	0,50	32	53

Dieser Versuch zeigt deutlich, daß unter dem Einflusse des Trypsins der Muskel weniger energisch die Citronensäure oxydiert. Aller Wahrscheinlichkeit nach würde auch bei der Oxydation der Fumar- und Apfelsäure ein gleiches Resultat erzielt werden. Doch haben wir keine diesbezüglichen Versuche gemacht.

VI. Einfluß des Trypsins auf die akzessorische Atmung der Gewebe.

Die Gewebe, die die stärkste akzessorische Atmung aufweisen, sind die Leber und die Niere der verschiedenen Tiere. Werden diese Gewebe 6 bis 8 Stunden nach dem Tode des Tieres bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt, so besitzen sie nur noch die akzessorische Atmung und können zu diesen Versuchen benutzt werden. Nur die Niere des Rindes bildet hiervon eine Ausnahme; die Hauptatmung kann in derselben 24 Stunden nach dem Tode noch fortdauern.

Wir haben Versuche mit der zerriebenen Leber von Rind, Pferd, Hammel und der Niere von Pferd gemacht. Das Trypsin selbst in großer Menge (2 g Trypsin für je 50 g Gewebe) hat keine nennenswerte Wirkung auf die akzessorische Atmung der eben genannten Gewebe ausgeübt. Man kann auch das Trypsin 1 Stunde lang auf die zerriebenen Gewebe bei einer Temperatur von 38° einwirken lassen, bevor man mit dem Schütteln beginnt, ohne daß der Gaswechsel hierdurch herabgesetzt werde.

In der Tabelle III sind die Resultate einiger typischer Versuche wiedergegeben.

VII. Einfluß des Trypsins auf die Oxydation der Harnsäure und des Alkohols.

Die an Urikoxydase reichsten Gewebe sind die Niere des Rindes und die Leber des Pferdes. Um den Einfluß des Trypsins gut wahr-

[1]) Diese Zeitschr. 31, 478, 1911.

nehmen zu können, empfiehlt es sich, die Hauptatmung völlig auszuschalten. Zu dem Zweck wählt man am besten die Leber des Pferdes 6 oder 8 Stunden nach dem Tode des Tieres und die Niere des Rindes ungefähr 24 Stunden nach dem Tode. Die Urikoxydase bleibt in den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Geweben 24 Stunden und noch länger intakt. Die Intensität der Wirkung der Urikoxydase wird durch die Steigerung der Kohlensäurebildung gemessen, wie wir es in einer früheren Arbeit[1]) gezeigt hatten.

Die an Alkoholoxydase reichsten Gewebe sind die Leber des Pferdes und die Leber des Hammels, wie wir es früher gezeigt haben[2]). Diese Gewebe gelangen 6 oder 8 Stunden nach dem Tode des Tieres zur Verwendung. Die Intensität der Wirkung der Alkoholoxydase wird durch die Steigerung der Sauerstoffaufnahme gemessen.

In diesen Versuchen wurde die für die Wirkung der Urikoxydase und der Alkoholoxydase nötige Alkalinität des Mediums durch Zusatz von NH_3 in einer Gesamtkonzentration von 0,5 : 1000 erzielt. Bei der Berechnung der Konzentration wurde 1 g Gewebe als gleichwertig mit 1 ccm Flüssigkeit betrachtet. Die Harnsäure wurde in Form von harnsaurem Natrium hinzugefügt.

In der Tabelle III stellen wir die Resultate einiger typischer Versuche zusammen.

Tabelle III.

Einfluß des Trypsins auf die akzessorische Atmung, auf die Wirkung der Urikoxydase und der Alkoholoxydase Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten, die Temperatur des Thermostaten 40°. Die Flaschen sind mit Sauerstoff gefüllt.

Gewebe 50 g	Harnsäure oder Alkohol g	Trypsin g	Aufgenommener Sauerstoff ccm	Entwickelte Kohlensäure ccm
Leber vom Pferd	00	0,0	32	45
idem	00	1,0	34	46
idem	Alkohol 0,50	0,0	53	43
idem	„ 0,50	1,0	52	44
idem	Harnsäure 0,50	0,0	57	79
idem	„ 0,50	1,0	59	78
Niere vom Rind	00	0,0	18	42
idem	00	1,0	20	41
idem	Harnsäure 0,50	0,0	43	86
idem	„ 0,50	1,0	42	88
Leber vom Hammel	00	0,0	30	48
idem	00	1,0	28	47
idem	Alkohol 0,50	0,0	46	44
idem	„ 0,50	1,0	45	46

[1]) Diese Zeitschr. 19, 219, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 28, 145, 1910.

Aus den in der Tab. III angeführten Versuchsergebnissen ersieht man, daß das Trypsin keinen merklichen Einfluß auf die akzessorische Atmung, auf die Wirkung der Urikoxydase und der Alkoholoxydase ausübt.

Außerdem haben wir das Trypsin auf die zerriebene Leber oder die zerriebene Niere 30 Minuten lang bei einer Temperatur von 38° in neutralem Medium oder in Gegenwart von NH_3 in einer Konzentration von 0,5 : 1000 einwirken lassen. Zu dem auf diese Weise behandelten Gewebe wurde hierauf die nötige Menge Alkohol oder Harnsäure hinzugesetzt und das Ganze in einer Sauerstoffatmosphäre energisch geschüttelt. Auch unter diesen Versuchsbedingungen blieb das Trypsin ohne Einfluß.

VIII. Allgemeine Betrachtungen.

Wir haben bereits im ersten Kapitel dieser Arbeit darauf hingewiesen, daß die Oxydationsvorgänge, die eine gewisse Intensität in den Tiergeweben aufweisen, in zwei Hauptgruppen geteilt werden können. Zur ersten Gruppe gehören die Prozesse, die in Abwesenheit von Zellen, sowie nach Alkoholbehandlung wirken können. Hierher gehören außer der akzessorischen Atmung die Alkoholoxydase und die Urikoxydase. Zur zweiten Gruppe gehören die Prozesse, die nur in Gegenwart von Zellen wirken können und durch Alkoholbehandlung zerstört werden. Hierher gehören die Hauptatmung, die Oxydation der Bernsteinsäure und die Oxydation der Citronensäure.

Wir haben nun gezeigt, daß das Trypsin keinerlei Einfluß auf die Prozesse der ersten Gruppe ausübt, hingegen aber die Prozesse der zweiten Gruppe bedeutend abschwächt.

Wir haben somit in der Trypsinwirkung ein neues Unterscheidungsmerkmal für die beiden Gruppen von Oxydationsprozessen und zugleich einen neuen Beweis für die ganz verschiedene Natur der Hauptatmung und der akzessorischen Atmung. Wir haben bereits darauf hingewiesen, daß die akzessorische Atmung auf die Tätigkeit einer oder mehrerer Oxydasen, die die Charaktere der gewöhnlichen Oxydationsfermente besitzen, zurückgeführt werden muß.

In bezug auf die Prozesse der ersten Gruppe scheint die Schlußfolgerung berechtigt, daß die Alkoholoxydase, die Urikoxydase, sowie die bei der akzessorischen Atmung wirkenden

Oxydationsfermente nicht aus Proteinsubstanzen bestehen, da sie durch Trypsinverdauung nicht zerstört werden.

Betreffend die Wirkung des Trypsins auf die Prozesse der zweiten Gruppe drängen sich zunächst drei Hypothesen auf. Nach der ersten Hypothese könnte das Trypsin die spezifischen Substanzen, die diese Oxydationsprozesse bewirken, angreifen und zerstören. Nach der zweiten Hypothese könnte die Wirkung des Trypsins dadurch erklärt werden, daß es die physikalische Struktur der Zelle zerstört. Nach der dritten Hypothese könnte das Trypsin bei der Verdauung der Gewebe hemmende Substanzen in Freiheit setzen, die die Oxydationsprozesse herabsetzen.

Diese dritte Hypothese kann ohne weiteres beseitigt werden, und zwar durch folgenden Versuch. Läßt man eine geringe Menge Trypsin (z. B. 0,10 g) auf zerriebenes Muskelgewebe (50 g) eine Stunde lang einwirken und preßt dann das Gemenge durch ein Leinwandtuch, so erhält man eine Flüssigkeit, die weder die Hauptatmung, noch die Oxydation der Bernsteinsäure beeinträchtigt.

Für die beiden ersten Hypothesen fehlt nun jeder direkte Beweis, um zu entscheiden, welche von beiden die richtigere sei. Übrigens besteht dieselbe Schwierigkeit für die Erklärung der vernichtenden Wirkung des Alkohols auf die Oxydationsprozesse der zweiten Gruppe.

Der Alkohol könnte ebenfalls in der Weise wirken, daß er die physikalische Struktur der Zelle oder auch (z. B. durch Fällung) die spezifischen in den Oxydationsprozessen mitwirkenden Substanzen tief verändert.

Wäre die erste Hypothese richtig, so würde hieraus der Schluß sich ergeben, daß die Substanzen, die die Hauptatmung bewirken, sowie die Oxydation der Bernsteinsäure und der Citronensäure verursachen, Proteinkörper sind. Nach Fränkel und Dimitz[1]) sind die wirksamen Substanzen der Gewebeatmung Phosphatidkörper. Palladin und Stanewitsch[2]) schreiben ebenfalls den Lipoiden eine aktive Rolle in der Pflanzen-

[1]) Fränkel und Dimitz, Gewebeatmung durch Intermediärkörper. Wiener klin. Wochenschr. 22, 1777, 1909.

[2]) Palladin und Stanewitsch, Die Abhängigkeit der Pflanzenatmung von den Lipoiden. Diese Zeitschr. 26, 351, 1910.

atmung zu. Die Hypothesen von Fränkel und Dimitz, betreffend die Atmung der Tiere, sowie diejenigen von Palladin und Stanewitsch, betreffend die Atmung der Pflanzen, scheinen uns durchaus nicht stichhaltig. Die Phosphatide oder die Lipoide, die in der Hauptatmung eine so aktive Rolle spielen sollten, müßten der Einwirkung des Trypsins widerstehen. Auch die akzessorische Atmung wird nicht durch Lipoidkörper zustande gebracht, da die hierbei wirksamen Substanzen durch eine Mischung von Alkohol und Äther gefällt werden.

IX. Experimentelle Ergebnisse.

1. Das Trypsin setzt die Hauptatmung der Tiergewebe sehr stark herab. Dieselbe Wirkung übt es auf die Oxydation der Citronensäure und der Bernsteinsäure aus.

2. Die Gewebesubstanzen, die unter dem Einflusse des Trypsins in Lösung gehen, weisen keinen merklichen Gaswechsel auf und besitzen auch nicht die Fähigkeit, Bernsteinsäure oder Citronensäure zu oxydieren.

3. Das Trypsin hat keinen Einfluß weder auf die akzessorische Atmung, noch auf die Urikoxydase und die Alkoholoxydase, wenigstens wenn die Wirkung des Trypsins nicht länger als eine Stunde gedauert hat.

Studien in der Chlorophyllgruppe. X.

Von

L. Marchlewski.

Über Phyllohämin. II.

Von

L. Marchlewski und J. Robel.

(Eingegangen am 14. Juni 1911.)

Mit 1 Figur im Text und 1 Tafel.

In einer vorläufigen Mitteilung hat der eine von uns[1]) darauf aufmerksam gemacht, daß Phylloporphyrin unter analogen Verhältnissen wie das Mesoporphyrin (nach dem Verfahren von J. Zaleski[2]) mit Eisensalzen behandelt, eine Eisenverbindung liefert, die dem echten Hämin täuschend ähnlich ist. Die Substanz wurde daher Phyllohämin genannt und in ihrer Bildung ein neuer und vielleicht, unter den vielen von dem einen von uns gelieferten, interessantester Beweis, der chemischen Verwandtschaft des Blut- und Blattfarbstoffs erblickt. Es war demnach überraschend, in einer Abhandlung[3]) von Willstätter und Fritsche den folgenden Satz zu lesen: „Die Porphyrine aus Hämin sind Dicarbonsäuren. Das Mesoporphyrin steht zwar dem Glaubo- und Rhodoporphyrin nahe, allein es bestehen doch zwischen dem Porphyrin der beiden Gruppen erhebliche Unterschiede, z. B. in den basischen Eigenschaften, die stärker sind bei den Häminderivaten. Es erscheint daher noch nicht möglich, von einem der Porphyrine aus dem Chlorophyll zu einer dem Hämin so ähnlichen Verbindung zu gelangen, wie sie Zaleski aus Mesoporphyrin durch Einführung des Eisens hergestellt hat."

Die folgenden Ausführungen geben einen Beweis dafür, daß die obigen Zweifel unbegründet sind, und daß demnach das Phylloporphyrin trotz mancher Merkmale, die es von den

[1]) Diese Zeitschr. 8, 320.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 43, 11, 1904.

[3]) Liebigs Ann. 258, 205.

Blutporphyrinen unterscheiden, auch in seiner Fähigkeit ein „Phyllohämin“ zu bilden, die konstitutionelle Ähnlichkeit mit den Blutporphyrinen verrät. Die Ähnlichkeit dieser chlorhaltigen Eisenverbindungen beider Reihen ist nicht geringer als die der entsprechenden Zinkverbindungen. Der exakteste Beweis der erwähnten Ähnlichkeit beruht auf dem Nachweis der überraschenden Übereinstimmung der optischen Eigenschaften, die bekanntlich im allgemeinen par excellence konstitutionell sind.

Darstellung des Phyllohämins.

0,4 g Phylloporphyrin (hier ist Schunck und Marchlewskis Phylloporphyrin, nicht Willstätter und Fritsches gemeint) wird in 50 ccm mit Kochsalz gesättigtem Eisessig gelöst, sodann noch so viel Kochsalz zugesetzt, daß trotz des Erwärmens der Mischung auf dem Wasserbade ein großer Teil des Salzes ungelöst bleibt. Sobald die Mischung die Temperatur des Wasserbades erreicht hat, wird Mohrsches Salz in Pulverform zugesetzt. Dasselbe setzt sich teilweise fest an die Wände des Gefäßes, es wird daher fleißig geschüttelt. Nach und nach wird die ursprüngliche Farbe des chlorwasserstoffsauren Salzes des Phylloporphyrins geändert; sie macht einer braunen Platz. Die Anwesenheit eines Überschusses von Kochsalz ist notwendig, da nur dann die Reaktion ein rascheres Tempo erhält. Nach dem Erkalten der Mischung erscheinen an den Gefäßwänden dunkelbraune Krystalle, die in dem überschüssig angewandten Kochsalz und Mohrs Salz eingebettet sind. Nach dem Filtrieren wird mit Wasser nachgewaschen und getrocknet. Aus dem noch dunkel gefärbten Filtrate scheidet Wasserzusatz das noch gelöste Phyllohämin in schwarzbraunen Flocken ab.

Um das Präparat umzukrystallisieren, verfährt man genau wie bei dem echten Hämin nach Schalfejews Methode. Hierzu wurde nur die krystallinische Abscheidung benutzt; sie wurde in einer kleinen Menge Chloroform, zu dem Chinin zugesetzt war, gelöst und die braune Lösung in das 4fache Volum von mit Kochsalz gesättigtem Eisessig, der auf 90° erwärmt war, gegossen. Bald darauf wurde die Abscheidung von glitzernden braunvioletten Krystallen beobachtet. Am nächsten Tage wurden die Krystalle abfiltriert, zunächst mit Eisessig und Wasser und dann mit Alkohol und Äther ge-

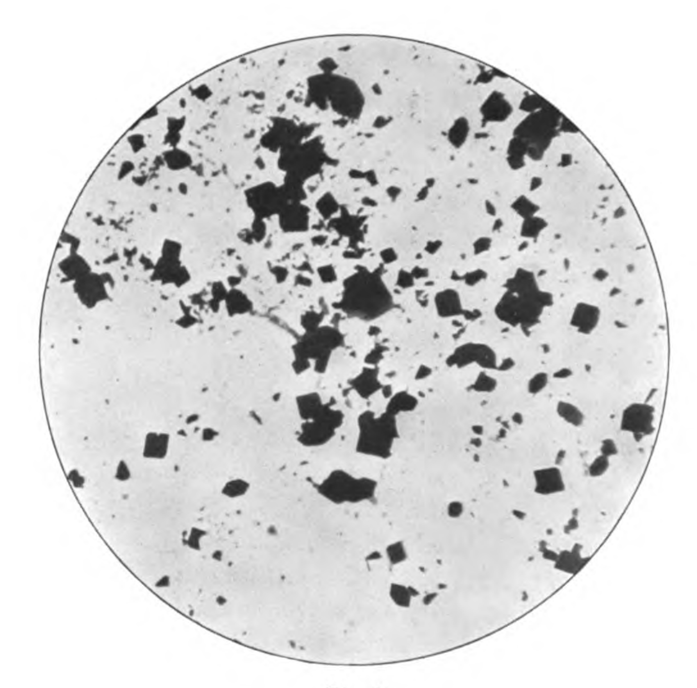
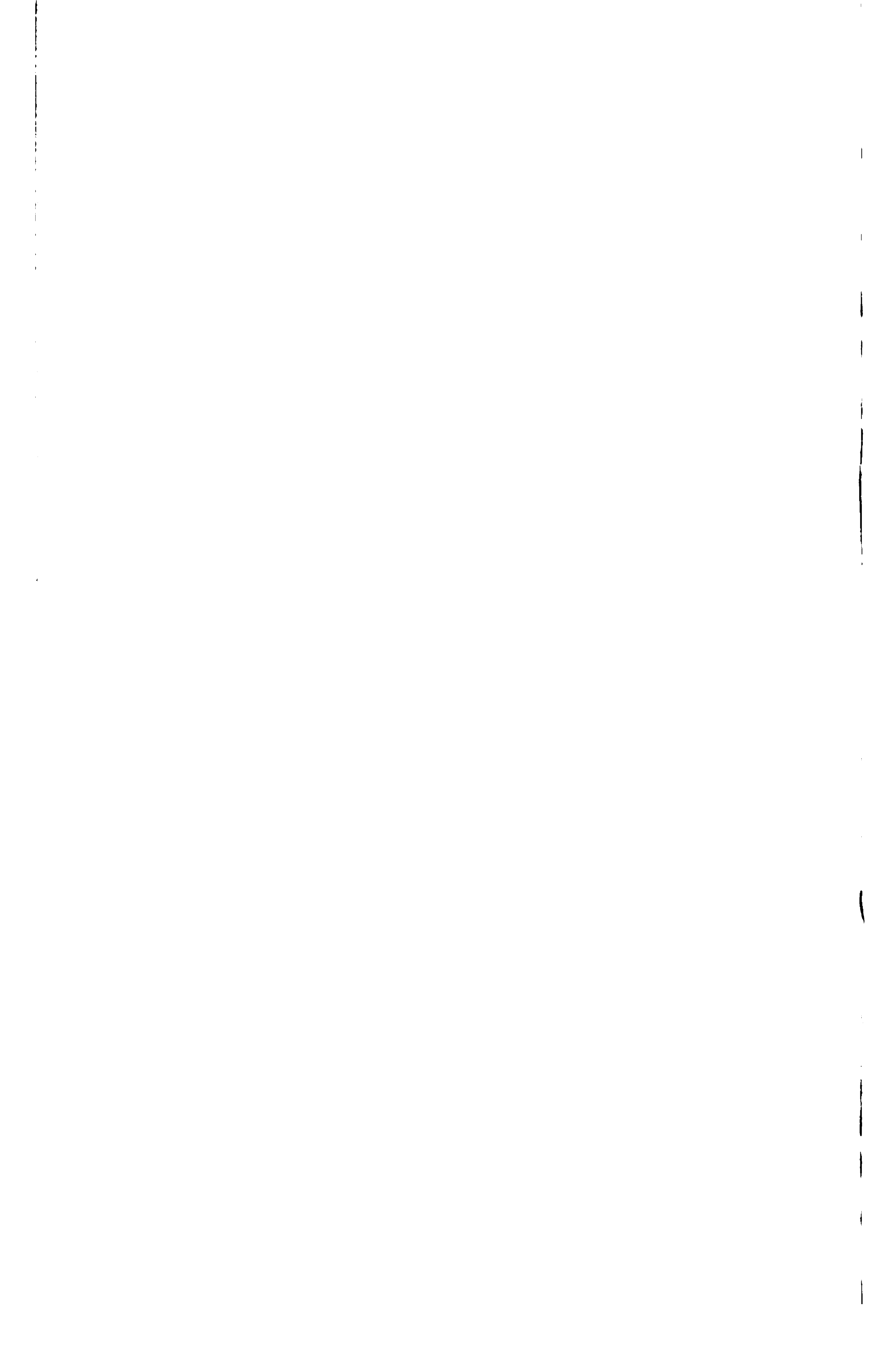


Fig. 1.

Marchlewski,
Studien in der Chlorophyllgruppe. X.

Verlag von Julius Springer
in Berlin.



waschen und im Vakuum getrocknet. 0,4 g Phylloporphyrin gaben 0,22 g Phyllohämin.

Äußerlich ist das krystallinische Phyllohämin vom echten Hämin nicht zu unterscheiden. Die braunen Krystalle haben einen violetten Schimmer und erscheinen unter dem Mikroskop als wohl ausgebildete 6seitige Platten. Den Habitus derselben ersieht man aus der beigefügten Tafel I. Prof. Dr. J. Morozewicz war so freundlich, die nähere Beschreibung der Krystalle zu besorgen. Das Phyllohämin krystallisiert wahrscheinlich im rhombischen System. Das polarisierte Licht wird nach der Kante *b* gerade ausgelöscht. Der der Kante *b* parallel schwingende Strahl wird ganz absorbiert. Der dazu senkrechte Strahl läßt das Blättchen mit braungelber Farbe zurück. Die Kombination könnte wie folgt dargestellt werden:

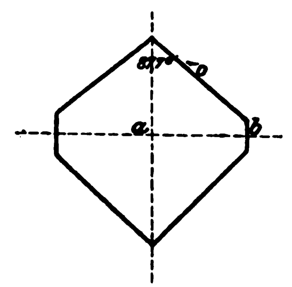


Fig. 1. *a* — (100), *o* — (011), *b* — (010).

Das Phyllohämin löst sich in organischen Lösungsmitteln durchweg leichter auf als das echte Hämin. In wässeriger 10%iger Natronlauge ist es unlöslich, auch beim Erwärmen, dagegen löst es sich überaus leicht in methylalkoholischem Natriumhydrat.

Phyllohämin ist, wie zu erwarten war, chlorhaltig, was durch die Flammenreaktion erwiesen wurde. Daß es eisenhaltig ist, ist selbstverständlich.

Quantitative Analysen können wir erst später mitteilen, da wir bemüht sind, Präparate verschiedener Darstellungen vollständig durchzuanalysieren. Das uns zur Verfügung stehende Material ist leider noch zu knapp.

Optisches Verhalten des Phyllohämins.

Die spektralen Eigenschaften alkoholischer wie saurer Lösungen des Phyllohämins sind denen des echten Hämins

täuschend ähnlich. Der Unterschied besteht nur darin, daß die Bänder des letzteren im Vergleiche mit den ersteren etwas mehr nach Rot hin verschoben sind. Die chininhaltigen Lösungen des Hämins zeigen, wie bereits Hetper und Marchlewski[1]) hervorhoben, nur zwei nicht gut definierte Bänder; die sauren Lösungen sind durch vier Bänder charakterisiert, von denen das im Gelb gelegene nur in konzentrierten Lösungen zu bemerken ist. Ganz ebenso verhalten sich Phyllohäminlösungen.

Die unten angeführten Werte wurden für eine Lösung ermittelt, die in 200 ccm Chloroform 0,05 g Phyllohämin und 0,1 g Chinin enthielt.

Schichtendicke	2 mm	3 mm	4 mm
Band I	600,8—589,0	602,0—588,8	602,5—583,0
„ II	495,5—476,8	495,8—475,5	496,0—471,5

	5 mm	7 mm
	Schatten von 617,8 an	Schatten von 619 an
Band I	602,8—581,0	603,0—579,3
		Endabsorption
„ II	496,8—471,5	496,0

	10 mm	15 mm
	Schatten von 619,5 an }	
Band I	603,5—572,5 }	620,8—583,3
	Endabsorption	Endabsorption
„ II	528,8	542,5

Weit charakteristischer sind die spektralen Eigenschaften der sauren Lösungen. 50 ccm der obigen Chloroformlösung wurden mit 5 ccm Eisessig versetzt und in einer 17 millimetrigen Schicht untersucht (Konzentration A).

Diese Lösung wurde dann verdünnt und wiederum untersucht, wie aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich ist.

	Konzentration A.	B. 10 ccm A + 2 Chlorof.	C. 10 ccm B + 2 Chlorof.
Band I	649,5—614,5	646,5—617,3	644,8—621,8
„ II	587,5—574,5	584,8—577,5	kaum sichtbar
„ III {	Endabsorption	Endabsorption	Endabsorption
„ IV {	552	550,3	550 innerhalb Aufhellg. des Feldes

[1]) Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1904, 227.

	Konzentration D.	E.
	10 ccm C + 4 Chlorof.	10 ccm D + 4 Chlorof.
Band I	644,0—626,5	643,0—627,0
„ II	kaum sichtbar	unsichtbar
„ III	547,3—526,0	545,0—527,0
„ IV	Endabsorption 512	511,5—583,3

Zum Vergleich führen wir das Spektrum des Hämins an, das nach der Methode von Nencki und Zaleski dargestellt war. Wir wollen nur das saure Spektrum berücksichtigen, weil es viel charakteristischer ist, obwohl das Spektrum der chininhaltigen Lösung dem der entsprechenden Phyllohäminlösung ebenfalls äußerst ähnlich ist. Wie aus dem Vergleich beider Reihen von Werten zu ersehen ist, sind die Häminwerte durchweg etwas höher, d. h. die Bänder sind weiter nach Rot hin verschoben. Zur Untersuchung gelang eine Lösung, die in 200 ccm Chloroform 0,05 g Hämin und 1 g Chinin enthielt. 50 ccm dieser Lösung wurden mit 5 ccm Eisessig versetzt (Lösung A) und in einer 17 millimetrigen Schicht untersucht. Die weiteren Verdünnungen sind aus der Tabelle ersichtlich.

	Konzentration A.	B.	C.
		10 ccm A + 2 Chlorof.	10 ccm B + 2 Chlorof.
Band I	657,0—629,5	656,0—630,0	655,0—631,0
„ II	595,5—582,0	595,0—582,5	kaum sichtbar
„ III, IV	Endabsorption 561,8	Endabsorption 560,5	Endabsorption 560,0 innerhalb Aufhellg. des Feldes

	D.	E.
	10 ccm C + 4 Chlorof.	10 ccm D + 4 Chlorof.
Band I	654,3—632,5	647,8—635,0
„ II	kaum sichtbar	unsichtbar
„ III	554,0—532,8	552,0—535,0
„ IV	Endabsorption 519,0	515,0—485,5

Es bedarf unserer Ansicht nach keiner weiteren Beweise der außerordentlichen Ähnlichkeit beider verglichenen Substanzen. Der einzige wichtige Unterschied besteht in der verschiedenen Krystallform, das echte Hämin ist monoklin.

Ein Beitrag zur Kenntnis der Phosphoröle und ihrer Bindung im Organismus durch den elektroskopischen Nachweis des Phosphors.

Von

H. Schmidt.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

(Eingegangen am 17. Juni 1911.)

Phosphor besitzt bekanntlich in elementarem Zustande, und zwar in der weißgelben Modifikation, eine große chemische Affinität zu Sauerstoff. Er oxydiert sich in Luft oder Sauerstoff erwärmt unter lebhafter Verbrennung zu P_2O_5. Bei gewöhnlicher Temperatur geschieht die Oxydation langsam unter Bildung von Nebel und dem charakteristischen Leuchten. Die näheren Vorgänge dieser langsamen Oxydation sind noch nicht einwandfrei aufgeklärt, und die Forschung darüber hat manche merkwürdigen Beziehungen aufgedeckt, die bei der Oxydation mit der Feuchtigkeit, der Temperatur, dem Licht, dem Sauerstoffpartialdruck usw. bestehen. Besonders in den letzten Jahren der Forschung über die Radioaktivität ist auch der Phosphoroxydation größere Aufmerksamkeit gezollt worden wegen der schon seit längerem bekannten Tatsache, daß Luft, die mit weißem Phosphor in Berührung gekommen war, eine relativ hohe Leitfähigkeit für Elektrizität aufwies, d. h. ionisiert war. Auf Grund dieser Untersuchungen gewann man folgende Vorstellung von den Vorgängen bei der langsamen Phosphoroxydation:

Zuerst kommt es zur Bildung von P_2O_3[1]. Dieser Vorgang soll ohne Leuchten und auch ohne ionisierende Wirkung stattfinden. Bei dieser Oxydation steigt die Temperatur des Phosphors so weit, daß es zur Selbstentzündung kommen kann, wobei sich dann bei reichlichem Sauerstoff gleich P_2O_5 bilden wird. Der Nebel, den man auf der Ober-

fläche des sich langsam oxydierenden Phosphors findet, besteht aus P_2O_3 (Phosphortrioxyd P_4O_6) und den höheren Oxydationsstufen. Bei gewöhnlicher Temperatur ist die Verdampfung des Phosphors zu gering, um durch dampfförmigen Phosphor die Leuchtwirkung zu erklären (nebenbei bemerkt bleibt P_4-Dampf bis 1024° undissoziiert). Vielmehr[1]) hat das Leuchten seinen Sitz in dem P_2O_3, in dem Nebel, was sich schon dadurch zeigen läßt, daß man den leuchtenden Nebel durch einen hinreichend kräftigen Luftstrom von dem Phosphor wegführen kann. Auch ist bekannt, daß der Nebel in langen, im Dunkeln leuchtenden Schwaden sich fortbewegt, und daß andererseits der Nebel kein elementarer Phosphor ist. Der eigentümliche Phosphorgeruch rührt vielleicht nur von Ozon her[1]), was sich entweder bei der Oxydation von Phosphor zu P_2O_3 oder der weiteren Oxydation bzw. Hydratisierung des letzteren zu phosphoriger Säure[2]) nebenher bildet.

Die Gegenwart von Sauerstoff ist unbedingt zum Leuchten notwendig. Wie sich die Oxydationsvorgänge in anderen Gasen verhalten, wird später ausführlicher behandelt. Aber Sauerstoff allein scheint die Oxydation nicht bewerkstelligen zu können ohne die Anwesenheit von Wasser. Baker[3]) fand, daß in absolut trockenem reinen Sauerstoff Phosphor destilliert werden kann, ohne zu verbrennen. Es handelt sich um eine katalytische Wirkung des Wassers, denn die Wassermenge, die für den Eintritt der Reaktion nötig ist, ist (nach Baker) sicher weniger als 0,001 g in 300000 l. Eine einwandfreie Erklärung dieser katalytischen Wirkung existiert vorläufig nicht. Auch die anderen Vorgänge, wie Leuchten und Ionisierung der Luft, hören bei schärfster Trockenheit der dabei in Betracht kommenden Faktoren auf.

Ursprünglich hatte man die Leitfähigkeit der Luft als eine Elektrolyse aufgefaßt und, da bei dieser die Atome frei werden, erwartet, daß in einem solchen Gase selbst bei vollständiger Trocknung chemische Prozesse eintreten könnten, doch haben dahinzielende Experimente ein negatives Resultat ergeben. Beim Leitendwerden der Gase entstehen eben nicht positive und negative Atomionen, sondern negative Elektronen und positive Ionen. An diesen kondensiert sich dann nach Untersuchungen von J. J. Thomson und Townsend der Wasserdampf; es bilden sich Wassertröpfchen und an diesen finden die chemischen Reaktionen statt. Eine Steigerung der Ionisation führt auch zu einer bedeutenden Steigerung der chemischen Vorgänge, analog der Beschleunigung chemischer Prozesse in Flüssigkeiten nach ihrem Dissoziationsgrad.

Die Einwirkung des Lichtes, speziell des ultravioletten Lichtes auf die Phosphoroxydation ist noch eine umstrittene Frage. Daß die Ionisierung nicht durch ultraviolettes Licht hervorgerufen wird, haben E. Meyer und E. Müller[4]) nachgewiesen. Sie ließen die Oxydation von Phosphor in dünnwandigen Quarzgefäßen vor sich gehen, die die kurzwellige Strahlung durchlassen. Eine Leitfähigkeit der Luft, selbst bei stärkstem Leuchten, war nicht nachzuweisen. Auch in dem von leuchtendem Phosphor ausgehenden Licht ist ultraviolette Strahlung bisher mit keiner Methode nachgewiesen. Dem hat man die Wirkung

von Phosphor auf die vor Licht geschützte photographische Platte gegenüber gehalten. Baker[5]) hatte Phosphor in je einer positiv, negativ geladenen und einer ungeladenen Bleiröhre auf Photoplatten wirken lassen. Am meisten geschwärzt wurde die Platte der positiv, am wenigsten die der negativ geladenen Röhren, und ungefähr die Mitte hielt die Platte der ungeladenen Bleiröhren. Das dabei gebildete Ozon wurde nicht gemessen. „Es würde an der positiv geladenen Röhre wenig, an der negativ geladenen viel Ozon gefunden worden sein." Danach scheint das Ozon keinen Einfluß auf die Platte gehabt zu haben. Man könnte hier an radioaktive Prozesse denken, wie sie bei Blei beobachtet sind. Aber Jorisson[5]), Knoblauch und Trautz fanden ebenfalls, daß oxydierender Phosphor mit Erfolg auf Photoplatten wirkt, die in schwarzes Papier gehüllt und durch dünne Gold- und Silberplättchen geschützt waren. Untersuchungen von M. Lewin und R. Rues[6]) konnten eine Einwirkung auf die Platte nicht bestätigen.

Das Wahrscheinlichste ist, daß es sich bei einer solchen Wirkung von Phosphor auf die Photoplatte um den Russel-Effekt handelt, d. h. es hat sich durch Ozon, das bei der Phosphoroxydation entsteht, aus dem immer in Spuren vorhandenen Wasser Wasserstoffsuperoxyd gebildet, und letzteres schwärzt bekanntlich die Platte[7]).

Die Rolle, die das Ozon bei der Phosphoroxydation spielt, steht im Zusammenhang mit der, die der Sauerstoffpartialdruck ausübt. Für die langsame Oxydation des Phosphors, wie sie beim Leuchten stattfindet, ist ein bestimmter Gehalt an Sauerstoff notwendig, und zwar gibt es nicht nur eine Grenze nach unten hin, sondern auch nach oben hin, also ein Optimum[8]). Sowohl das Leuchten, wie auch die Oxydation hören im reinen Sauerstoff auf, und wenn auch noch absolute Trockenheit herrscht, übt selbst die Temperatur dabei keinen Einfluß mehr aus. Nach Versuchen von E. Scharff[9]) ist der Sauerstoffdruck, bei dem maximales Leuchten stattfindet, abhängig von der Temperatur und der Wasserdampftension. Ozon pflegt das Leuchten zu begünstigen.

Da das Leuchten durch P_2O_3 hervorgerufen werden soll, so ist zu erwarten, daß reines P_2O_3 alle beim Leuchten des Phosphors beobachteten Erscheinungen ebenfalls und in noch höherem Maße zeigt. In der Tat haben Schenk u. andere[1]) festgestellt, daß P_2O_3 in trockenem Sauerstoff gar nicht leuchtet. In feuchtem Sauerstoff steigt der Leuchtdruck mit wachsender Temperatur und erreicht eine obere von der Temperatur abhängige Grenze, Ozon soll dabei nicht auftreten. Die Erscheinungen des sog. intermittierenden Leuchtens[10]) bei Phosphor und dessen Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck treten bei P_2O_3 noch deutlicher auf wie beim reinen, gelben Phosphor. Jorisson[5]) schreibt dem Ozon eine das Leuchten begünstigende Eigenschaft zu und findet, daß Phosphor, der wegen zu hohen Druckes von Sauerstoff nicht leuchtet, diese Erscheinung sofort zeigt, wenn eine Spur Ozon hinzugefügt wird. Einigkeit über die Rolle, die das Ozon ausübt, ist noch nicht erreicht. Es ist auch herangezogen worden, um die ionisierende Wirkung des Phosphors auf die umgebende Luft zu erklären, von S. Guggenheimer[11]), Conrad und

Topolansky[12]), F. Richarz[13]) und anderen. Andererseits nehmen E. Meyer und E. Müller[4]) an, daß das Ozon, das bei der langsamen Oxydation von Phosphor sich bildet, bei seiner Desozonisierung nicht die enorme Ionenzahl liefern kann, die man bei der starken Leitfähigkeit der „Phosphorluft" annehmen muß. Außerdem gelang es ihnen[4]) und Schenk[1]), zu zeigen, daß die Leitfähigkeit der Phosphorluft auch nach Fortschaffung des Ozons bestehen bleibt.

Es war lange Zeit eine Streitfrage, ob die Leitfähigkeit durch Bildung echter Gasionen zustande kommt oder durch Konvektion der Elektrizität an den feinsten schwebenden Phosphoroxydpartikelchen. Letztere Ansicht wurde in einer Reihe von Arbeiten von G. C. Schmidt[14]) vertreten. Nun ist es einer Reihe von Autoren, wie F. Harms[15]), L. und E. Bloch[16]), Elster und Geitel[17]), Jorisson und Reesema[18]), Schenk, Mihr und Bantien[1]), C. Barus[19]), Chr. Ries[20]) und anderen gelungen, den Beweis für echte Ionisierung der Luft bei der P-Oxydation zu erbringen durch den experimentellen Nachweis eines Sättigungsstromes. Befindet sich zwischen zwei auf entgegengesetztem Potential gehaltenen Platten ein Gas, das einer ionisierenden Kraftquelle irgendwelcher Art unterliegt, so findet eine Überleitung der Elektrizität durch die Gasionen statt. Dieser Strom folgt nun nicht dem Ohmschen Gesetze, insofern er nicht bei Anlegung höherer Spannungen entsprechend wächst, sondern er erreicht einen Grenzwert, der nicht überschritten wird bei noch so hohen Spannungen. Dieser „Sättigungsstrom" tritt dann ein, wenn in der Zeiteinheit ebensoviel Ionen gebildet werden, als sich Ionen zu neutralen Molekülen vereinen. Der Nachweis eines solchen Sättigungsstromes war mit der Konvektionstheorie nicht vereinbar.

Wenn auch entschieden war, daß es sich um die Bildung von Gasionen handelt, so war noch zweifelhaft, wodurch es dazu kam.

L. und E. Bloch[16]) sowie Schenk[1]) und andere fanden, daß Ozon und Phosphorescenz nicht durch direkte Oxydation des festen Phosphors entstehen, sondern durch die einer Emanation des Phosphors, die vom Luftstrom fortgeführt wird. Diese Emanation scheint das Anhydrid der phosphorigen Säure zu sein, P_2O_3. Zu ähnlicher Vorstellung gelangte E. Jungfleisch[21]), doch behauptete er, daß ein inaktives mit P-Dampf gesättigtes Gas bei der Oxydation keine Leuchtwirkung hervorzubringen vermag.

Meine im folgenden mitgeteilten Versuche ergaben jedoch im Gegenteil, daß es unter entsprechenden Versuchsbedingungen zu sehr intensivem Leuchten und dabei zu hohen Ionisierungsgraden kommen kann. Die Phosphoremanation, die demnach aus P_2O_3 bestehen soll, ist nach Untersuchungen von Schenk[1]) sehr flüchtiger Natur. Die bei seiner weiteren Oxydation auftretende Leitfähigkeit wird nur wenig geschwächt, wenn man die Phosphorluft Glaswollefilter oder Watte passieren läßt, was auch andere Untersuchungen bestätigt haben. Die gebildeten Gasionen geben Kondensationskerne für den Wasserdampf ab, was ihre Beweglichkeit sehr vermindert nach Beobachtungen von Ries[20]), die mit denen von Harms[15]) und Elster und Geitel[17]) übereinstimmen, nach

denen der Effekt der Phosphorluft durch den Nebel stark herabgesetzt wird, was ich auch in meinen Versuchen bestätigen konnte.

Da P_2O_3 nur dann entsteht, wenn elementarer Phosphor zur Oxydation gelangt, so ist der Nachweis seiner ionisierenden Kraft zugleich ein solcher für das Vorhandensein von Phosphor in elementarem Zustande. Schenk und seine Mitarbeiter[1]) haben darauf eine elektroskopische Methode zum Nachweis von elementarem Phosphor begründet, und haben diese Untersuchungsmethode so vervollkommnet, daß die Empfindlichkeitsgrenze bei $4{,}1 \times 10^{-3}$ mg Phosphor liegt. Sie benutzten dabei das Elektroskop von Elster und Geitel, das die Firma Günther & Tegetmeyer in Braunschweig liefert. Bei diesem Elektroskop ist bestmöglichste Isolierung des geladenen Systems mit geringster Kapazität desselben so vereinigt, daß eine hohe Empfindlichkeit resultiert. Die Genauigkeit der Ablesung wird durch eine parallaktische Visierungsvorrichtung vergrößert.

Bei den komplizierten chemisch-physikalischen Vorgängen bei der Phosphoroxydation ist es nicht auffallend, daß die toxikologische Wirkung des Phosphors trotz der großen Summe von Arbeit, die zu ihrer Aufklärung geleistet wurde, immer noch viel Rätselhaftes bietet. Besonders auffallend bei der Phosphorvergiftung ist, daß der sonst so leicht oxydable und reduzierend wirkende gelbe Phosphor im tierischen Organismus so schwer in seine Oxyde übergehen soll, und andererseits, daß eine so minimale Menge Phosphor, wie sie unter Umständen zu einer Vergiftung hinreicht, ohne selbst oxydiert zu werden, doch so gewaltige Umwälzungen im Organismus hervorrufen soll, wie es z. B. bei dem Transport des peripheren Fettes in die Leber geschieht.

Die ältere als auch die neuere Literatur enthält zahlreiche Belege für das längere Verweilen von freiem Phosphor im Blute und in den Organen bei einer Phosphorvergiftung (cf. Václav Plavec[22]), was zu der allgemeinen Anschauung geführt hat, daß der Phosphor nach seiner Resorption aus dem Verdauungstractus oder nach subcutaner ev. intravenöser Injektion noch lange im Organismus in elementarem Zustand erhalten bleibt und als solcher seine Giftwirkung äußert.

Einige Autoren nehmen zwar eine Phosphorbindung an und vindizieren dieser die Giftwirkung, doch geben auch diese noch zu, daß Phosphor längere Zeit im Körper in elementarem Zustande bleibt. Aber noch in den neuesten Abhandlungen steht die Ansicht vertreten, daß der resorbierte Phosphor

sich lange elementar erhält und nur als solcher giftig wirkt. Um nun auf der einen Seite die zahlreichen Belege dafür, daß sich der Phosphor nach seiner Resorption im Körper lange Zeit im freien Zustande erhält, auf der anderen Seite aber die sicheren Erfahrungen, daß der Phosphor bei der gewöhnlichen Phosphorvergiftung in der Mehrzahl der Fälle, bei denen es sich nicht um enorme Phosphordosen handelt, weder durch die Ausatmungsluft noch durch den Harn nach außen ausgeschieden wird[23]), miteinander zu kombinieren, nahm Plavec[22]) an, daß der Phosphor doch nicht ganz frei sei, sondern daß er an irgend eine Substanz wenigstens teilweise gebunden sein dürfte, und zwar in einer Form, in der er die elementaren chemischen und physikalischen Eigenschaften nicht verliert. Daß eine wenn auch langsame Oxydation des Phosphors nach seiner Resorption im Organismus stattfindet, nehmen die meisten Autoren an. Aber dadurch, daß es Plavec nicht gelang, durch Einatmung von reinem Sauerstoff und Ozon die Oxydation des Phosphors im Blute zu beschleunigen und so einen Einfluß auf die Phosphorvergiftung zu erzielen, kam er zu der Annahme einer chemischen Bindung des Phosphors an organische Elemente im Blute und im Körper. Für diese Ansicht führte er den experimentellen Beweis. Er ließ Phosphor in einer Ätheralkohollösung auf defibriniertes Rinderblut wirken und konstatierte, daß in dem Blute eine doppelte Bindung des elementaren Phosphors stattfindet; erstens eine solche durch Oxydation, die an die Anwesenheit von Oxyhämoglobin gebunden ist, daneben aber auch eine chemische Bindung des Phosphors, und zwar im Blute im Vergleich mit anderen Organen sehr ausgiebig. Diese Bindung erfolgt nach seinen Versuchen sehr schnell und wird mit der Menge des bereits gebundenen Phosphors langsamer. Er fand, daß 50 ccm arterielles Blut 0,02 mg Phosphor bei 15° und 0,08 mg bei 37° so schnell binden, daß bereits nach 20 Sekunden der Phosphornachweis mit der empfindlichen Schererschen Reaktion negativ ausfiel. Für diese Art Bindung fand Plavec, daß es gleich sei, ob man defibriniertes Blut, lackfarbenes Blut oder eine Blutkörperchenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung nimmt. Dagegen tritt so gut wie keine Bindung ein, wenn man Serum oder andere Körperflüssigkeiten wie Transsudate und Exsudate nimmt.

Daß Phosphor auch in venösem Blute, wenn auch quantitativ verschieden, gebunden wurde, konnte er ebenfalls nachweisen durch Verschwinden der Schererschen Reaktion. An welchen organischen Bestandteil sich der Phosphor und in welcher Form er sich bindet, ist noch nicht sicher erwiesen. Selmi's[34]) Ansicht, daß es sich um eine Albuminatbildung handeln könnte, dürfte verfrüht sein. Immerhin ist aber bemerkenswert, daß das Vorkommen einer organischen Verbindung mit Phosphor von vielleicht Eiweißcharakter, das als Antigen wirken könnte, den Befund von Ehrlich und Morgenroth[25]) erklären könnte, die bei der Phosphorvergiftung eine Komplementverarmung bis zum völligen Komplementschwund im Blute vergifteter Tiere fanden. Bei einer Nachprüfung und Bestätigung dieses Befundes kamen G. v. Bergmann und Savini[26]) gleichfalls zu der Annahme, daß bei der Phosphorvergiftung im Organismus selbst, und zwar in der Leber, ein Antikörper erzeugt würde, nach ihrer speziellen Ansicht ein Autoantihämolysin. Weitere Untersuchungen darüber stehen noch aus.

Eigene Versuche.

Plavec hatte eine chemische Reaktion benützt, um den Phosphor nachzuweisen. Da Phosphor jedoch in der Ionisierung der Luft eine Eigenschaft besitzt, die nur an seinen elementaren Zustand resp. an das Vorhandensein seiner niedersten Oxydationsstufen gebunden ist, so benützte ich auf Veranlassung von Prof. Straub im folgenden diesen Nachweis des Phosphors, um seine Existenz im Blute bei der Phosphorvergiftung nachzuweisen. Es galt also einmal mit Phosphor gesättigtes Blut auf das Elektroskop wirken zu lassen, dann zu zeigen, ob die Ausatmungsluft von Tieren ionisiert ist, bei denen Phosphor im Blute kreist.

Nun hat aber die Phosphoroxydation, sofern sie mit dem Leuchten und der ionisierenden Wirkung zusammenhängt, noch die merkwürdige Eigenschaft, durch minimale Beimengungen gewisser organischer Substanzen wie Chloroform, Terpentinöl, Alkohol, Äther usw. gehemmt zu werden[9]). Bereits Letheby[28]) machte die Beobachtung, daß mit Terpentinöl befeuchteter Phosphor die Fähigkeit im Finstern zu leuchten einbüßt.

Dieser hemmende Einfluß des Terpentinöls auf die Oxydation des Phosphors ist seitdem von allen bestätigt worden und dient zur Erklärung der antidotischen Wirkung des Terpentinöls bei der Phosphorvergiftung. Auch bewirkt der Zusatz von Terpenen zu Phosphorölen eine Verlängerung ihrer Haltbarkeit[29])[30]). Daß diese organischen Substanzen auch die ionisierende Wirkung des Phosphors aufheben, möchte ich per Analogie aus meinen Versuchen mit Leuchtgas schließen, das stark hemmend auf beides wirkte.

Aus diesem Grund habe ich nicht wie Plavec mit ätherischen und alkoholischen Lösungen arbeiten können, sondern benützte zu meinen Versuchen ölige Lösungen von Phosphor.

Das Elektroskop war ein von Elster und Geitel konstruiertes, das gleiche System, mit dem Schenk[1]), Harms[15]) und andere gearbeitet haben. Durch Anbringung eines Zerstreuungszylinders habe ich die Kapazität des isolierten Systems vergrößert und daher mich nicht mehr nach der Eichtabelle, die dem Instrument beigegeben wird, richten können. Um aber doch vergleichbare Zahlenwerte zu haben, habe ich bei jedem Versuch, die Anzahl der Skalenteile, die das Aluminiumblättchen passiert, auf den Zeitraum von 10 Minuten berechnet. Um andererseits die Empfindlichkeit des Elektroskops zu steigern, wurde in einer Reihe von Versuchen der geladene Zerstreuungskörper mit einem Drahtnetzkäfig umgeben, der gleichnamig geladen wurde.

Nach Elster und Geitel[31]) soll dann der Elektrizitätsverlust des geladenen Körpers in ionisierter Luft zunehmen.

Das Elektroskop, dessen Mantel geerdet wurde, wurde als Ganzes in einen geräumigen Glashafen gesetzt, dessen Wand mit einem Drahtkäfig ausgekleidet war, der ebenfalls geerdet wurde. Auf diese Weise waren störende Einflüsse von außen nach Möglichkeit ausgeschaltet und der Normalverlust des Instrumentes in Ruhe ein kaum merklicher. Die Ladung geschah stets mit demselben Potential, das der städtischen Stromleitung entnommen wurde.

Das zu prüfende Gas wurde durch eine Glasröhre dicht an den Zerstreuungskörper geführt. Die Druckluft, die die ionisierte Luft an den Apparat befördern sollte, wurde anfangs

durch eine Wasserstrahlluftpumpe gewonnen; doch war die so hergestellte Druckluft immer etwas ionisiert, was wohl dem Lenhard-Effekt zuzuschreiben sein dürfte. Ich nahm dann zwei große Wasserflaschen, deren Niveaudifferenz den Druck herstellte und wobei die Luftmenge durch einen Hahn regulierbar war.

Im folgenden seien einige Versuche mitgeteilt über die ionisierende Wirkung von Phosphor im allgemeinen und besonders in öligen Lösungen.

Während der Normalverlust des Elektroskops in Ruhe 0,1 und bei einem reinen Luftstrom 0,6 betrug (die Zahlenangaben beziehen sich auf 10 Minuten und sind jedesmal Mittelwerte mehrerer Beobachtungen), stieg der Verlust bei gesättigtem Phosphormandelöl ganz bedeutend und erreichte ca. 40. Die ionisierende Wirkung des Phosphoröles erwies sich, wie vorauszusehen war und aus Tab. Ia und Ib hervorgeht, proportional der absoluten Menge des Öles bei gleichbleibender Konzentration und auch proportional der absoluten Menge Phosphor bei gleichbleibender Menge des Lösungsmittels.

Tabelle Ia.

Die Ionisierung durch gesättigtes Phosphormandelöl proportional der vorhandenen Menge.

	Zeit	Skala	Σ	Δ	Δ (10′)
Viel gesättigte P-Öllösung	0 5′	17,3 + 9 4 + 2,5	26,3 6,5	19,8	39,6
2 ccm	0 4′	15 + 8,3 5 + 2,9	23,3 7,9	15,4	38,5
3 Tropfen	0 5′	17,1 + 9,2 15,5 + 8,8	26,3 24,3	2,0	4,0
1 Tropfen	0 5′	15,6 + 8,5 15,3 + 8,4	24,1 23,7	0,4	0,8
Reine Luft	0 10′	15,8 + 8,5 15,6 + 8,4	24,3 24,0	0,3	0,3

Σ bedeutet die Addition der Skalenteile.

Δ bedeutet die Differenz der am Anfang und am Ende der Beobachtung addierten Skalenteile.

Δ (10′) bedeutet die Umsetzung dieser Differenz auf die Zeitdauer von 10 Minuten.

Tabelle Ib.

Bei einer Temperatur von 38° wurden absteigende Mengen 1%iger Phosphormandelöllösungen genommen. Die Versuche wurden jedesmal mit frischer Lösung gemacht, um die Abklingungserscheinungen auszuschalten. Beziehung zwischen der Ionisationskraft und der absoluten Menge des Phosphoröles.

Menge	Zeit	Skala	Σ	Δ	Δ (10')	Mittelwert
Normalverlust	0	15,8 + 8,5	24,3	0,3	0,3	0,3
Luft	10'	15,6 + 8,4	24,0			
1%iges P-Öl	0	14 + 7,8	21,8	15,3	66,5	62,6
10 ccm	2' 22"	4 + 2,5	6,5			
	0	12 + 6,5	18,5	10,6	58,8	
	1' 52"	5 + 7,9	7,9			
5 ccm	0	15,6 + 7,4	23,0	16,5	55,0	56,2
	3' 5"	4 + 2,5	6,5			
	0	16,6 + 8,7	25,3	20,7	57,4	
	3' 32"	3,8 + 1,4	5,2			
2,5 ccm	0	14 + 7,8	21,8	14,5	38,3	44,1
	3'	2,8 + 4,5	7,3			
	0	14 + 7,8	21,8	14,5	50,0	
	2' 30"	2,8 + 4,5	7,3			
1 ccm	0	14,8 + 8,1	22,9	16,5	27,3	26,2
	6' 7"	4 + 2,5	6,5			
	0	14,0 + 7,7	21,7	15,2	26,2	
	5' 50"	4 + 2,5	6,5			
	0	14,4 + 7,9	22,3	14,4	26,2	
	5' 35"	5 + 2,9	7,9			
	0	14 + 7,8	21,8	13,9	25,2	
	5' 30"	5 + 2,9	7,9			

Eine lineare Abhängigkeit scheint nicht vorzuliegen, was ja dadurch erklärlich ist, daß der Phosphor in den Ölen Veränderungen erleidet, die um so intensiver sind, je mehr Phosphor vorliegt. Daß die Natur des Öles dabei keine Rolle spielt, konnte experimentell festgestellt werden; aus Tab. II geht hervor, daß die zerstreuende Kraft 0,2%iger Phosphorlösungen in Mohn-, Rüb-, Oliven-, Mandel- und Leinöl und Lebertran gleich groß ist.

Läßt man die Luft durch die Lösung durchperlen, so wird die Ablesung am Elektroskop eine unsichere, da die verschiedenen Öle mehr oder weniger stabile Schäume liefern, die einen gleichmäßigen Luftstrom nicht ermöglichen. Ich konnte ferner die Beobachtung machen, daß bei Verwendung des gleichen Phosphoröles, um die Ablesung am Elektroskop mehrere Male zu machen, die ionisierende Kraft desselben mit der Zeitdauer des

Tabelle II.

Ionisierung durch je 5 ccm verschiedenartiger Phosphoröle von gleicher Konzentration (0,2 %), 24 Stunden nach ihrer Bereitung, unter Anwendung getrockneter Luft.

Öl	Zeit	Skalenteile	Σ	(Δ 10′)	Mittelwert
Lebertran	0	13,8 + 7,8	21,6	0,2 } 0,3	0,3
	10′	13,7 + 7,7	21,4		
	0	14,0 + 7,9	21,9	0,4	
	5′	13,9 + 7,8	21,7		
Leinöl	0	14,1 + 7,9	22,0	0,3 } 0,35	
	10′	13,9 + 7,8	21,7		
	0	13,6 + 7,7	21,3	0,4	
	10′	13,4 + 7,5	20,9		
Mohnöl	0	14,3 + 8	22,3	0,3	
	10′	14,1 + 7,9	22,0		
Olivenöl	0	14,1 + 7,9	22,0	0,3	
	10′	13,9 + 7,8	21,7		
Rüböl	0	13,9 + 7,8	21,8	0,2	
	10′	13,8 + 7,8	21,6		
Mandelöl	0	14,2 + 8,0	22,2	0,4	
	10′	14,0 + 7,8	21,8		
Reine Luft	0	—	—	0,0	
	10′	—	—		

Versuchs abnahm. Trotzdem war noch reichlich elementarer Phosphor in der Lösung, der sich mit der Straubschen[32]) Kupfersulfatmethode nachweisen ließ. Schüttelte man ein solches Phosphoröl, das nach einiger Zeit ganz geringe Zerstreuungswerte lieferte, durch, so zeigen die Tab. IIIa und b, daß die

Tabelle IIIa.

Abnahme der Ionisation mit der Zeit. — 5 ccm 0,2 %iges Phosphormohnöl. — Trockene Luft.

Uhr	Zeit	Skala	Σ	Δ	(Δ 10′)	
4^{18}	0	14 + 8	22,0	12,5	15,6	
	7′ 53″	6 + 3,5	9,5			
4^{30}	0	13,1 + 7,7	20,9	2,1	2,1	
	10′	11,9 + 6,8	18,7			
4^{11}	0	13 + 7,6	20,6	1,4	1,4	
	10′	12,1 + 7,1	19,2			
4^{56}	0	13,8 + 7,9	21,7	2,6	2,6	schütteln
	10′	12,1 + 7	19,1			
5^{10}	0	13,5 + 7,8	21,3	1,5	3,0	nochmals schütteln
	5′	12,6 + 7,2	19,8			

Tabelle IIIb.

Abklingung der Ionisationskraft von 2 ccm einer gesättigten Phosphormandelöllösung.

Zeit	Skala	Σ	Δ	Δ 10′	
0 4′	15 + 8,3 5 + 2,9	23,3 7,9	15,4	38,5	
0 7′ 50″	15 + 8,3 5 + 2,9	23,3 7,9	15,4	19,7	
0 10′ 33″	15 + 8,2 5 + 2,9	23,2 7,9	15,3	14,5	
0 15′ 18″	15 + 8,3 5 + 2,9	23,3 7,9	15,4	10,1	
0 17′ 12″	15 + 8,2 5 + 2,9	23,2 7,9	15,3	8,8	
0 4′ 41″	16 + 8,7 5 + 2,9	24,7 7,9	16,8	35,7	Schütteln

zerstreuende Wirkung wieder anstieg, um in einigen Fällen beinahe den Anfangswert wieder zu erreichen; dann wiederholte sich der Vorgang der „Abklingung“ wieder (Tab. IIIa und b). Man konnte dabei die Bildung von zarten Oberflächenmembranen beobachten; wenn diese die ganze Oberfläche des Phosphoröles bedecken, hört die Ionisation auf, die aber sofort wieder ansteigt, wenn durch Schütteln eine neue Oberfläche geschaffen wurde. Das Häutchen besteht (Bohrisch[30]) aus Oxydationsprodukten des Phosphors, die in dem Öl unlöslich sind. Nebenher spielt wohl noch eine Verharzung des Öles eine Rolle; letztere wird ja bekanntlich durch Ozon, das sich bei der Phosphoroxydation bildet, begünstigt. Das Wahrscheinlichste ist, daß die Ionisation durch Phosphoröl nur von den Teilen Phosphor herrührt, die sich an der Oberfläche befinden. Ist die Oberfläche durch Bildung fester Oxyde bedeckt, so ist der tieferliegende Phosphor vor weiterer Oxydation geschützt; daher das Fehlen der Ionisierung nach der Membranbildung. Bei stark verdünnten Phosphoröllösungen habe ich eine ausgesprochene Membranbildung nicht beobachtet, aber auch bei diesen tritt eine, wenn auch nicht so markante Abklingung der ionisierenden Kraft ein, die wohl mit der langsamen Diffusion durch die hohe Viscosität erklärbar ist. — Wie die folgende Tab. IV zeigt, sind bei reinem Phosphor derartige

Tabelle IV.

Lineare Beziehung zwischen der Ionisierung durch reinen Phosphor und seiner Masse.

Reiner Phosphor in Stangen	Zeit	Skalenteile	Σ	Δ	Δ (10′)	Mittelwert
6,5 cm lang	0 2′ 40″	13 + 7,3 6 + 3,5	20,3 9,5	10,8	39,2	38,0
	0 3′	13 + 7,3 6 + 3,5	20,3 9,5	10,8	36,0	
	0 2′ 50″	13 + 7,3 6 + 3,5	20,3 9,5	10,8	37,9	
	0 2′ 43″	13 + 7,3 6 + 3,5	20,3 9,5	10,8	39,2	
3,25 cm lang	0 4′	13 + 7,5 6 + 3,5	20,5 9,5	11,0	27,5	27,3
	0 4′ 3″	13 + 7,5 6 + 3,5	20,5 9,5	11,0	27,2	
	0 4′	13 + 7,5 6 − 3,5	20,5 9,5	11,0	27,5	
1,6 cm lang	0 5′ 17″	13 + 7,5 6 + 3,5	20,5 9,5	11,0	20,9	17,2
	0 6′ 40″	13 + 7,5 6 + 3,5	20.5 9.5	11,0	16,2	
	0 6′ 49″	13 + 7,5 6 + 3,5	20,5 9,5	11,0	16,0	
	0 6′ 52″	13 + 7,5 6 + 3.5	20,5 9,5	11,0	16,0	
	0 6′ 34″	13 + 7.5 6 + 3,5	20,5 9,5	11,0	16,9	

Abklingungserscheinungen nicht zu beobachten. Vielmehr ist die ionisierende Wirkung für längere Zeit konstant und in fast linearer Abhängigkeit von der absoluten Menge Phosphor, die in Oxydation begriffen ist. — Daß es sich bei der Membranbildung auf Phosphorölen um Anhäufung von Oxydationsprodukten handelt, beweist der Umstand, daß sich diese Erscheinung durch Erwärmung des Öles verdeutlichen läßt. — Gerlinger[33]) hat konstatiert, daß schwache Phosphoröllösungen, wenn sie phosphorescieren sollen, um so mehr erhitzt werden müssen, je weniger Phosphor sie enthalten. Er hat diese Methode zur quantitativen Phosphorbestimmung in Ölen benützt. Es geht daraus hervor, daß der Phosphor in dem Öl in einer Form enthalten ist, in der er durch physikalische Maß-

nahmen verdrängt werden kann. Prüft man die Ionisierung durch ein solches Phosphoröl, so beobachtet man, wenn die Temperatur über diejenige des Phosphorschmelzpunktes steigt, und wenn am Schluß die Zerstreuung am Elektroskop den geringsten Wert hat, daß mit der Straubschen Methode kein Phosphor mehr nachzuweisen ist, andererseits aber chemisch Phosphorsäure nachweisbar ist. Bei Temperaturen der Körperwärme ist ceteris paribus meist noch etwas Phosphor in dem Öl vorhanden, aber so wenig, daß es erst längerer Zeit bedarf, bis die Straubsche Reaktion eintritt.

Tabelle V.

Beschleunigung der Abklingung von 2,5 ccm einer 1%igen Phosphoröl-mandelöllösung durch erhöhte Temperatur.

Uhr	Zeit	Skalenteile	Σ	Δ	Δ(10′)	Bemerkungen	Temp.
5^{05}	0 5′ 33″	17 + 9 5 + 2,9	26,0 7,9	18,1	32,9		38°
	0 6′ 10″	16 + 8,5 5 + 2,9	24,5 7,9	16,6	26,3		
	0 6′ 45″	16 + 8,8 5 + 2,9	24,8 7,9	16,9	25,2		
5^{26}	0 8′	16 + 8,5 5 + 2,9	24,5 7,9	16,6	20,7		
5^{38}	0 10′	16 + 8,5 5 + 2,9	24,5 7,9	16,6	16,6		
5^{52}	0 4′ 45″	16 + 8,6 5 + 2,9	24,6 7,9	16,7	35,3	Stark schütteln.	38°
	0 5′	16 + 8,6 5 + 2,9	24,6 7,9	16,7	33,4		
6^{00} 6^{05}	0 5′	15 + 8,1 5 + 2,9	23,1 7,9	15,2	30,4		
	0 10′	16 + 8,6 5,8 + 3,1	24,6 8,9	15,7	15,7		
	0 10′	16 + 8,6 8,2 + 4,5	24,6 12,7	11,9	11,9		
6^{35}	0 10′	15 + 8,1 7,5 + 4,2	23,1 11,7	11,4	11,4		
6^{47} 6^{57}	0 10′	16 + 8,6 10,4 + 5,4	24,6 16,2	8,4	8,4		

Daraus geht hervor, daß auch der Phosphor in öligen Lösungen im Organismus leicht entfernt werden kann und durch Oxydation angreifbar und bindbar wird.

Nach Untersuchungen von Schenk[1]) hat die Oxydation sowie das Leuchten ein Temperaturoptimum bei 40°. Schenk arbeitete mit reinem Phosphor. Bei Versuchen über die ionisierende Kraft von P-Ölen fand ich für diese ein Temperaturoptimum bei 60°. Die P-Öle wurden in einem Thermostaten auf der gewünschten Temperatur gehalten, und die Luft wurde einmal darübergeleitet, dann aber auch hindurchgetrieben, um so die innere Reibung der Öle auszuschalten, die den in der Tiefe befindlichen Phosphorteilchen den Weg zur Oberfläche, wo sie oxydiert werden, erschweren. Nimmt man eine Phosphorwasseremulsion, die durch hindurchperlende Luft immer in Bewegung erhalten bleibt, so bleibt eine Abklingung aus, und man findet eine lange Zeit gleichbleibende Ionisierung, bis der Phosphor oxydiert worden ist.

Tabelle VI.

Temperaturoptimum für die Ionisierung durch Phosphoröl.

Es wurden für jeden Einzelversuch 5 ccm 1%ige P-Mandelöllösung genommen, die jedesmal erneuert wurde. — Bei jedem Versuche wurden die Öle 5 Minuten in dem auf die betreffende Temperatur erwärmten Wasserbade gehalten zwecks gleichmäßiger Erwärmung, und dann erst wurde mit der Ablesung begonnen. Der Druck, der die getrocknete Luft über das Öl streichen ließ, war stets der gleiche.

Zeit	Skala	Σ	Δ	Δ(10')		Temp.
0 10'	13,5 + 7,4 7 + 3,9	20,9 10,9	10	10		14°
0 10'	13,5 + 7,4 7,6 + 4,1	20,9 11,7	9,2	9,2		28°
0 10'	15 + 8,3 3,8 + 2,2	23,3 6,0	17,3	17,3		40°
0 5'	15 + 8,3 5,5 + 3,0	23,3 8,5	14,8	29,6	26,2	50°
0 7'	15 + 8,3 4,5 + 2,8	23,3 7,3	16,0	22,8		50°
0 2'	15,1 + 8,2 3,8 + 2,5	23,3 6,3	17,0	85,0	82,2	60°
0 2'	14 + 8,1 3,8 + 2,4	22,1 6,2	15,9	79,5		60°
0 3'	15 + 8,3 4 + 2,3	23,3 6,3	17,0	56,6		70°
0 7' 20"	15 + 8,5 4 + 2,5	23,5 6,5	17,0	23,3		80°

Da ich beabsichtigte, für das Vorhandensein von elementarem Phosphor im Blute phosphorvergifteter Tiere dadurch den Beweis zu erbringen, daß ich die durch Phosphor eventuell bewirkte Ionisierung der Ausatmungsluft bestimmte, galt es zunächst noch festzustellen, welchen Einfluß die Kohlensäure und eventuell reiner Sauerstoff auf die Ionisierung durch Phosphor ausüben. Ich prüfte daraufhin die Oxydationsvorgänge bei Phosphor in verschiedenen Gasen: Luft, Kohlensäure, Sauerstoff, Wasserstoff, Stickoxydul und Leuchtgas.

E. Jungfleisch[21]) hatte behauptet, daß ein inaktives, mit Phosphor gesättigtes Gas bei seiner Oxydation keine Leuchtwirkung hervorzubringen vermag. Schenk[1]) hatte konstatiert, daß reiner Sauerstoff, der über gelben Phosphor gestrichen war, eine viel geringere Zerstreuung der Elektrizität bewirkt, wie Luft unter sonst gleichen Bedingungen.

Ich verwandte zu meinen Versuchen einmal Phosphorwasseremulsionen (durch Schütteln von flüssigem Phosphor in heißem, nach und nach erkaltendem Wasser hergestellt), dann auch gesättigte Phosphormandelöllösungen. Die Gase ließ ich nach ihrer Reinigung und Trocknung durch die phosphorhaltigen Lösungen durchströmen und die dann phosphorgesättigten Gase durch ein Glasrohr an den geladenen Zerstreuungszylinder des Elektroskops gelangen. Letzteres befand sich in einem geräumigen Glashafen, in dem stets Sauerstoff zur Oxydation genügend vorhanden war. — In folgendem sind die Resultate, die Mittelwerte verschiedener Beobachtungen sind, tabellarisch zusammengestellt.

Tabelle VII.
Phosphoroxydation und Ionisation in verschiedenen Gasen.

Gase	Δ (10′)		
	bei reinem Gas	bei Phosphorwasser-emulsion	bei gesättigtem Phosphormandelöl
Luft	0,6	55,0	39,6
O_2	0,6	159,7	93,0
CO_2	1,7	1421,3	1363,0
H_2	0,7	864,5	1214,0
N_2O	0,8	1417,0	180,0
Leuchtgas	0,2	0,4	0,2

Während der Verlust bei den reinen Gasen den Wert von 2 (in 10 Minuten) nicht erreichte, war die ionisierende Wirkung

der Gase, nachdem sie sich mit Phosphordampf (Emanation?) gesättigt hatten und nun kurz vor dem Zerstreuungszylinder mit Sauerstoff in Berührung kamen, eine ganz ungewöhnlich große. Inaktive Gase, wie H_2, CO_2, N_2O, die selber in keiner Weise chemisch auf Phosphor wirken konnten, wiesen, sowie sie mit dem Sauerstoff der Luft in Berührung kamen, Zerstreuungswerte auf, die manchmal das 1000fache ihrer Eigenzerstreuung übertrafen. Machte man die Beobachtung im Finstern, so bemerkte man unmittelbar nach dem Einlassen des Gases in die Flasche, in der sich einmal Phosphorwasseremulsion, ein anderes Mal gesättigtes Phosphormandelöl befand, und die im Dunkeln ein schwaches Leuchten zeigte, ein Aufleuchten in derselben, das in dem Grade abnahm, je mehr die Luft oder vielmehr der Sauerstoff in der Flasche durch das betreffende Gas verdrängt wurde. Das Gas entwich durch eine ca. 20 cm lange Glasröhre in den Raum. Sobald das Leuchten in der Flasche vollkommen aufgehört hatte (nebenbei bemerkt auch jede sichtbare Rauchbildung), entstand an der Ausströmungsöffnung des Glasrohres eine Art helleuchtende Flamme von solcher Leuchtkraft, wie ich sie sonst nicht bei Phosphor zu sehen gewohnt war. Man konnte im Dunkeln von dieser Flamme ausgehende schwach leuchtende Schwaden noch über 1 m weit verfolgen. Dabei herrschte ein intensiver Phosphorgeruch. Brachte man den Zerstreuungszylinder des Elektroskops an diese „Phosphorflamme", so kam es zu einer fast augenblicklichen Entladung, die bei plötzlicher Unterbrechung des Gasstromes ebenfalls sofort stoppte, um ebenso prompt bei Öffnung desselben wieder zu beginnen. Die Erscheinung war ganz die gleiche, ob ich Wasserstoff, Stickoxydul oder Kohlensäure nahm. Jedesmal machte es den Eindruck, als wenn die betreffenden Gase eine Art Phosphoremanation mit sich führten, die sehr flüchtiger und doch stabiler Natur ist, und die, mit dem Sauerstoff der Luft in Berührung gekommen, die Luft sehr stark ionisiert. Da es sich nicht um flüchtige Phosphoroxyde handeln kann, denn nach Verdrängung des Sauerstoffs in der Flasche kann eine Oxydation gar nicht stattfinden, kann nur eine Phosphorverdampfung und eine Sättigung des inaktiven Gases mit Phosphordampf stattfinden.

Jungfleischs[21]) Befunde kann ich demnach nicht bestätigen. Nimmt man unter gleichen Versuchsbedingungen Leuchtgas, das keine von der anderer Gase abweichende selbstzerstreuende Wirkung hat, so beobachtet man weder Leuchten, noch Rauchbildung, noch irgendeinen Einfluß auf die Ladung des Elektroskops, auch wenn es nur in Spuren der Luft beigemischt ist. Es gehört demnach in die Gruppe der Körper, die nach Untersuchungen von Scharff[9]) die Oxydation des Phosphors hemmen und dadurch auch die damit verbundenen Leucht- und Ionisierungserscheinungen. Die Möglichkeit, daß es sich bei Gasen wie H_2, N_2O, CO_2 um eine sofortige Ionisierung derselben handelt, und daß diese Gase bereits ionisiert an das Elektroskop gelangen, ist unwahrscheinlich. Es müßte dann die Ionisierung durch Phosphor von seiner Oxydation vollständig trennbar sein, was sonst nicht beobachtet worden ist, und auch gegen die Befunde von Schenk und anderen sprechen würde, nach denen die Ionisierung durch Phosphoroxyde hervorgerufen wird. Beweisen ließe sich das nur dadurch, daß man die „Phosphorgase" an das Elektroskop in einem sauerstofffreien Medium gelangen ließe, was mir experimentell zu verwirklichen nicht einwandfrei gelungen ist. Nebenbei bemerkt, habe ich bei Einwirkung inaktiver Gase auf Phosphoröle niemals eine Membranbildung auf der Oberfläche bemerkt. Daraus folgt, daß die Membran, von der früher die Rede war, aus ölunlöslichen Oxyden besteht.

Läßt man statt inaktiver Gase reinen Sauerstoff auf Phosphor wirken (cf. Tab. VII), so hört in der Flasche, dem vermehrten Partialdruck entsprechend, das Leuchten auf; aber an der Ausströmungsöffnung findet, sowie der Partialdruck wieder sinkt, lebhaftes Leuchten statt, und die zerstreuende Wirkung dieser leuchtenden Schwaden auf das Elektroskop beträgt das Doppelte bis Dreifache derjenigen von gewöhnlicher Luft, die über Phosphor gestrichen war. Schenk[1]) hatte, was die Ionisierung betrifft, die entgegengesetzte Beobachtung gemacht. Ozonbildung habe ich dabei unberücksichtigt gelassen.

Als Ergebnis dieser Versuche fand ich, daß die Übertragung der Phosphorwirkung auf das Elektroskop durch reinen Sauerstoff oder inaktive Gase, wie CO_2, H_2, N_2O, einen die zerstreuende Wirkung fördernden Einfluß hat.

Ich komme nach diesen Feststellungen auf die Versuche Plaveos über die Bindung des resorbierten Phosphors im Organismus, speziell im Blute zurück.

Um diese nachzuprüfen, versetzte ich defibriniertes Rinderblut mit einer Phosphormandelölemulsion, wie man sie bei subcutanen und intravenösen Injektionen bei Tieren anwendet. 1 ccm gesättigtes Phosphormandelöl wurde mit 9 ccm 5 %iger Sodalösung kräftig emulgiert. Bei Einwirkung von reinem Sauerstoff, der selbst einen Ladeverlust von 0,4 bewirkt, auf diese Phosphoremulsion, resultierte als Mittelwert von 5 Beobachtungen ein Zerstreuungsverlust von 136. Ich untersuchte nun das Blutserum für sich allein und die mit 0,9 %iger Kochsalzlösung aufgeschwemmten Blutkörperchen. Beide Flüssigkeiten gaben beim Durchströmen von Sauerstoff einen Ladeverlust, der kaum von 0 verschieden war. Das Serum sowohl, wie die Blutkörperchenaufschwemmung wurden mit Phosphorölemulsion so versetzt, daß in einem Gesamtvolum von 60 ccm Flüssigkeit 0,001 g elementarer Phosphor vorhanden war. Durch die so versetzte und gut durchgeschüttelte Flüssigkeit wurde reiner (s. o.) Sauerstoff durchgeleitet. Dabei trat anfangs starke Rauchbildung ein und Leuchterscheinungen im Dunkeln. War die Luft in der Flasche durch den Sauerstoff verdrängt, d. h. hörte sowohl das Leuchten als auch die Rauchentwicklung in der Flasche auf, dann wurde der durchgeleitete Sauerstoff an den Zerstreuungszylinder des Elektroskops geführt. Ich fand nun bei der Serum-Phosphorölemulsion noch nach 4 Stunden eine deutliche Zerstreuung von 63, die anfangs 92 betrug, und beim Durchlassen von Luft Rauchbildung und intensives Leuchten in der Dunkelkammer.

Versetzte ich dagegen unter Einhaltung der gleichen Mengenverhältnisse die Blutkörperchenaufschwemmung mit Phosphorölemulsion, so ist nach 25 Minuten weder eine zerstreuende Wirkung auf die Elektroskop-Ladung zu bemerken, noch findet im Dunkeln eine Spur von Leuchten statt, wenn man auch unter Variierung des Sauerstoffpartialdruckes noch so lange und kräftig schüttelt. Das anfangs hellrote Blut hat eine schmutzig braunrote Farbe angenommen. Es muß demnach neben der Oxydation, zu deren Zustandekommen auch in dem Serum Gelegenheit war, noch eine andere Art der

Phosphorbindung in der Blutkörperchenaufschwemmung stattgefunden haben, vielleicht eine organische Bindung an das Stroma der Blutkörperchen. Die Versuche sind bei Zimmertemperatur ausgeführt worden. Ich glaube, daß es in der Wärme zu einem sehr viel schnelleren Verschwinden des elektroskopisch nachweisbaren Phosphors kommt, wie ja auch Plavec[22]) bereits nach 20 Sekunden mit der Schererschen Reaktion keinen Phosphor mehr nachweisen konnte.

Leitete ich sofort nach Herstellung einer den vorigen Versuchen quantitativ gleichen Phosphor-Blutkörperchenaufschwemmung durch dieselbe CO_2, so kam es zu einer dunklen Färbung des Blutes. Die Rauchentwicklung sowie das Leuchten in der Flasche hörten nach völliger Verdrängung des Sauerstoffs durch Kohlensäure auf. Nach 40 Minuten war auch in dieser venösen Blutmischung mit dem Elektroskop kein Phosphor mehr nachweisbar. Mithin findet die Bindung des Phosphors auch in venösem Blute statt, wenn auch langsamer als im arteriellen Blute.

Plavecs Resultate über die Bindung von resorbiertem Phosphor im Blute waren demnach bestätigt.

Wenn es experimentell als erwiesen gelten kann, daß das Blut resorbierten Phosphor zu binden vermag, so gibt es doch andrerseits eine Anzahl Belege in der Literatur, die dem widersprechen. Dieser Widerspruch ist jedoch nur ein scheinbarer und beruht nur auf der Dosierung der einverleibten Phosphormenge sowie auf der Zeit, die zur Resorption des Phosphors und seiner Bindung zur Verfügung steht, worauf Plavec in seiner Arbeit[22]) bereits hingewiesen hatte. Da die Bindung (inkl. Oxydation im arteriellen Blute) in dem Maße sich verlangsamt, als sich Phosphor bereits gebunden hat, ist es verständlich, daß bei Verabreichung geringer Dosen es schnell zur vollständigen Bindung im Organismus kommt, daß dagegen bei großen Dosen Phosphor in ungebundener elementarer Form noch einige Zeit existiert und im Blute nachweisbar ist. Im letzteren Falle ist nun anzunehmen, daß der frei im Blute kreisende Phosphor durch die Alveolarwände der Lungen hindurch auf die Exspirationsluft seine Wirkung ausüben kann, indem er ihre Leitfähigkeit für Elektrizität erhöht.

Bevor ich diese Leitfähigkeit nachzuweisen suchte, kontrollierte ich die Möglichkeit, ob überhaupt Phosphor in irgend-

einer Form und in irgend einer Weise bei Phosphorvergiftung in die Ausatmungsluft gelangen kann. In dieser müßte dann Phosphor sich chemisch nachweisen lassen durch Überführung der Oxyde in Orthophosphorsäure und Nachweis derselben mit Ammoniummolybdat, ein Reagens, von dem ich mich überzeugte, daß es noch Orthophosphorsäure in einer Verdünnung von 2×10^{-8} nachweisen kann. Ich sperrte zu diesem Zwecke 2 Meerschweinchen in einen Holzkasten, dessen Luft kontinuierlich durch destilliertes Wasser geleitet wurde. Nach 24 Stunden war in dem Wasser keine Spur von Phosphor nachweisbar. Dann bekamen die Tiere gesättigte Phosphormandelöllösung (1 bis 2 mal 0,25 ccm) subcutan injiziert. Nach 18 Stunden war die Reaktion auf Phosphorsäure in dem dest. Wasser deutlich positiv. Ich konnte den gleichen Befund andere Male nach 15 resp. 20 Stunden erheben. Daß Fehlerquellen, durch haftengebliebenes Phosphoröl an der Injektionsstelle sowie durch Verunreinigung des Holzkastens mit Phosphoröl, tunlichst vermieden worden sind, sei nebenher bemerkt.

Danach scheint es, daß bei der Phosphorvergiftung Phosphor in irgendeiner Form mit der Ausatmungsluft ausgeschieden wird. Wenn sich nun zeigen ließe, daß letztere dabei ionisiert ist, dann hätte man einen Anhalt, anzunehmen, daß es sich um die Einwirkung elementaren Phosphors resp. seiner niedrigsten Oxydationsstufen handeln würde.

Die Literatur weist mehrere Belege auf für Beobachtungen von Phosphor in der Exspirationsluft.

Dybkowsky[34]) hatte einem Tiere zuerst Phosphor per os gegeben und gab dem Tiere später Kohlenoxyd per rectum. Erst nach dieser zweiten Vergiftung konstatierte er, daß die Ausatmungsluft $AgNO_3$ stark reduzierte, was sie vorher nicht tat. Bei der oralen Phosphorvergiftung kommt es zu einer Hyperämie der Darmschleimhaut[23]) und da nebenher noch eine Erweiterung der Bauchgefäße durch Blutdrucksenkung[35]) vor sich geht, kann das arterielle Blut den Phosphor gleich nach der Resorption binden, was nicht mehr möglich ist, wenn das Oxyhämoglobin in Kohlenoxydhämoglobin verwandelt ist. Lecorché[36]) bewirkte eine Verarmung des Blutes an Sauerstoff durch mäßige Asphyxie und beobachtete dann ebenfalls, daß die Ausatmungsluft Silbernitrat reduziert.

Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß bei jeder Einverleibung von Phosphor per os solcher in der Mundhöhle in Spuren zurückbleibt oder aber auch durch Ructus wieder dahin gelangt und so zu Versuchsfehlern Veranlassung gibt. Gibt man Phosphoröl intravenös in solchen Dosen, wie es Kochmann[37]) tat (1 bis 2 ccm 2%iges P-Öl), dann kann eben der Phosphor so schnell nicht gebunden werden, daß es nicht vorher zu multiplen Ölembolien in die Lungencapillaren kommt. Kochmann fand in solchen Fällen bei Kaninchen leuchtende Ausatmungsluft und Nebelbildung und konstatierte die Reduzierung von $AgNO_3$ und die Anwesenheit von Phosphorsäuren.

Hermann[38]) hat bei der Injektion einer feinen P-Ölemulsion direkt ins Blut keine Phosphorescenz der Ausatmungsluft beobachtet. Ebensowenig habe ich in meinen Versuchen bei intravenöser Injektion von P-Ölemulsion weder Phosphorescenz noch Nebelbildung der Ausatmungsluft beobachtet. Nach Plavec[22]) kommt bei intensiver Resorption von Phosphor elementarer Phosphor durch die Venen in die Lungen. Hier findet jedoch nach Plavec[22]), Dybkowsky[34]), Haußer[39]) eine schnelle Bindung statt. Haußer[39]) hat defibriniertes mit P-Dämpfen gesättigtes Blut durch überlebende Lungen geleitet. In dem Blut, das die Lungen passiert hatte, fand er weder Phosphorescenz, noch Phosphorgeruch, und der Phosphornachweis nach Mitscherlich war negativ.

Bevor ich die Ionisierung der Ausatmungsluft bei der Phosphorvergiftung untersuchte, konstatierte ich, daß die Ausatmungsluft normaler Tiere keine merkliche Zerstreuung auf das Elektroskop ausübt. Zu gleichem Resultate war Dufour[40]) gekommen, der Untersuchungen von Ashworth, nach denen die vom Menschen ausgeatmete Luft besondere leitende Eigenschaften haben soll, nicht bestätigen konnte.

Zwei mit gesättigtem Phosphormandelöl subcutan vorbehandelte Meerschweinchen wurden in einen Holzkasten geschlossen, dessen Luft durch sanfte Druckluft direkt über den Zerstreuungszylinder des Elektroskops geblasen wurde.

Der Versuch wurde erst einige Zeit nach der Injektion vorgenommen, und vor jeder Einzelablesung durch 5 Minuten lange Pause der Ausatmungsluft Gelegenheit gegeben sich anzusammeln. Während die Ausatmungsluft vor der Injektion

einen Abfall von 3,9 hervorrief, war derselbe nach der Injektion auf 5,6 gestiegen. Diese Differenz ist so geringfügig, daß ich daraus keine weiteren Schlüsse ziehen möchte. Versuche, die mit Mäusen ausgeführt wurden, ergaben gleichfalls kein brauchbares Resultat, vielleicht wegen ihrer zu geringen Lungenkapazität. Ich nahm nun Kaninchen und, veranlaßt durch die Erfahrungen bei Anwendung des reinen Sauerstoffs bei Phosphorölen, arbeitete ich bei diesen Tieren mit Trachealkanüle und reinem Sauerstoff. Im folgenden in Kürze das Protokoll:

I.

Normalverlust in Ruhe ist in 20 Minuten = 0.

Der Ladeverlust durch das Kaninchen vor der Injektion (Trachealkanüle und reiner Sauerstoff) ist in 10 Minuten = 0,05.

Injektion von Phosphorölemulsion in die rechte Arteria femoralis. Phosphordose = 0,5 ccm gesättigte Phosphormandelöllösung.

		Zerstreuungsverlust für 10 Minuten
11^{33} a. m.	Beginn der Injektion.	
11^{36}	Ende der Injektion	0
12^{09} p. m.		0,5 kein Phosphorgeruch in der Exspirationsluft
12^{38}		0,1
1^{07}		0,23
3^{08}	II. Injektion an gleicher Stelle und der gleichen Menge	
3^{13}		0,5
3^{26}		0,1
4^{05}	Exitus.	

Sektion: Alle Organe (Darm ausgenommen) riechen nach Phosphor und leuchten stark im Dunkeln; besonders: Blut, Lunge, Leber.

Der Vorhof schlug noch.

Prüfung der Organe bei 37° auf ihre zerstreuende Wirkung der Elektroskopladung.

Lunge	7,6
Leber	8,3
Blut	8,8

II.

Kaninchen, Trachealkanüle, reiner Sauerstoff.

	Normalverlust in Ruhe	0,2
	Tier vor der Injektion	0,8

5 ccm gesättigte Phosphormandelöllösung werden mit 15 ccm verdünnter Sodalösung emulgiert.

11^{06} a. m.	I. Injektion in die Schenkelarterie von 5 ccm Emulsion = 1,25 gesättigtes P-Öl	0,5
11^{40} a. m.	II. Injektion von gleicher Menge am gleichen Ort	0,5
11^{49} a. m.	Phosphorgeruch in der Exspirationsluft	1,6
12^{30} p. m.	III. Injektion, wie die I. und II.	1,2
1^{00} p. m.		1,8
1^{10}	Exitus.	

Sektion: Wenig Harn; kein Leuchten desselben im Dunkeln.

Im ganzen wenig Phosphorgeruch und dieser besonders an den Injektionsstellen, die im Dunkeln schwach leuchten. Sonst kein Leuchten der Organe.

Das Sektionsblut bewirkte einen Verlust von 5,4.

Fasse ich die Ergebnisse dieser Tierversuche zusammen und berücksichtige ich, daß die hohe Feuchtigkeit, die die Ionenbeweglichkeit verlangsamt, die engen Luftwege mit ihren die Elektrizität leitfähigen Wandungen, der hohe Wiedervereinigungskoeffizient, der bei Ionen in unelektrischem Felde stärker ist, ein günstiges Resultat beeinträchtigen, so möchte ich die gefundenen Zahlen, so gering sie auch sind, doch als positiven Befund gelten lassen für die Möglichkeit, daß die Exspirationsluft eines mit Phosphor vergifteten Tieres ionisiert wird. Dieses geschieht meiner Ansicht nach aber nur bei plötzlicher Überschwemmung des Blutes mit großen Phosphormengen, denen das Tier ja auch bald erliegt. Der Befund stände nicht im Widerspruche mit den Ergebnissen von Plavec und anderer Forscher.

Zusammenfassung.

1. Die Leitfähigkeit der Luft für Elektrizität bewirkt Phosphor auch in seinen öligen Lösungen, und zwar proportional den vorhandenen Phosphormengen.

2. Dieser Vorgang hat ein Temperaturoptimum bei 60°.

3. Die Ionisierung nimmt mit der Oxydation des Phosphors ab, wobei sich bei Ölen eine schützende Schicht ölunlöslicher Oxyde bildet.

4. Inaktive Gase wie H_2, CO_2, N_2O vermögen sich mit Phosphordampf zu sättigen und üben auf die Luft, sobald es zur Oxydation kommt, eine sehr starke Ionisierung aus.

5. Reiner Sauerstoff sättigt sich mit Phosphordampf und oxydiert ihn erst bei seiner Verdünnung, wobei starke Ionisierung stattfindet.

6. Phosphor in öligen Lösungen wird bei gewöhnlicher Temperatur von arteriellem wie auch von venösem Blute gebunden, dagegen nicht von dem Serum.

7. In der Ausatmungsluft phosphorvergifteter Tiere ist chemisch Phosphor nachweisbar.

8. Die Exspirationsluft bei der Vergiftung mit hohem intraarteriellen Phosphordosen ist ionisiert. Demnach gelangt in solchen Fällen elementarer Phosphor aus dem Blute in die Alveolarwand, wo er oxydiert wird.

Literatur.

[1]) R. Schenk, F. Mihr, H. Bantien, Über den die elektrische Leitfähigkeit bewirkenden Bestandteil der Phosphorluft. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 1566.

[2]) Thorpe und Tutton, Journ. chem. Soc. 57, 445, 1890; 59, 1019, 1891.

[3]) H. Brereton Baker, Über die Ionisation von Gasen und die chemischen Veränderungen. Nature 84, 388 bis 389, 1910; Naturw. Rundschau 25, Nr. 5, 1910.

[4]) Edgar Meyer und E. Müller, Ursachen der Ionisation der Phosphorluft. Verhdl. d. physikal. Ges. 2, 332 bis 336; Referat: Chem. Centralbl. 1, 61, 1905.

[5]) W. P. Jorisson, Oxydation des Phosphors. Chem. News 92, 62 bis 65; Ref.: Chem. Centralbl. 2, 878 und 1153, 1905.

[6]) M. Lewin und R. Rues, Zur Kenntnis der Radioaktivität der gewöhnlichen Materie. Physikal. Zeitschr. 10. Jahrg., Nr. 17, S. 576.

[7]) K. Schaum, Über die photographische Wirkung des Ozons. Physikal. Zeitschr. 6, 73, 1905.

[8]) W. P. Jorisson und W. E. Ringer, Grenzdruck bei P-Oxydation. Chem. News 92, 150 bis 152; Ref.: Chem. Centralbl. 2, 1217, 1905.

[9]) Jorisson, Chem. Weekblad 1904, 341; Ref.: Chem. Centralbl. 1, 1055, 1904.

[10]) Roscoe und Schorlemmer, Lehrbuch der Chemie.

[11]) S. Guggenheimer, Über die Ionisation bei der Ozonbildung. Physikal. Zeitschr. 5, 397, 1904.

[12]) V. Conrad und M. Topolansky, Elektrische Leitfähigkeit und Ozongehalt der Luft. Physikal. Zeitschr. 5, 749, 1904.

[13]) F. Richarz, Über das Entstehen von Ionen aus Ozon. Physikal. Zeitschr. 5 [6], 1, 1905.

[14]) G. C. Schmidt, Emanation des Phosphors. Physikal. Zeitschr. 4, 293, 1903; Annal. d. Physik 10 [4], 704 bis 729, 1903; Ref.: Chem. Centralbl. 1, 912, 1903; Physikal. Zeitschr. 5, 445 bis 447, 1904; Ber. d. physikal. Ges. 4, 640 bis 679, 1906.

[15]) F. Harms, Über die Emanation des Phosphors. Physikal. Zeitschr. 4, 111 u. 436, 1903; 5, 93 bis 95, 1904; Jahrb. für Radioaktivität und Elektrotechnik 1, 291, 1904.

[16]) Eugène Bloch, Compt. rend. d. l'Acad. d. Sciences 135, 1324 bis 1326; Ref.: Chem. Centralbl. 1903, 312; ebenda 137, 1040 bis 1042; ebenda 1, 243, 1904; Annales chim. Phys. 4 [8], 25 bis 144; Ref.: Chem. Centralbl. 1, 491, 1905. — Leon und E. Bloch, Compt. rend. d. l'Acad. d. Sciences 147, 842, 1908. — E. Bloch, Le Radium 1904, Nr. 2, 33; 4, 66.

[17]) Elster und Geitel, Physikal. Zeitschr. 4, 457; 7, 370.

[18]) W. P. Jorisson und N. H. Siewertsz von Reesema, Chem. Weekblad 6, 931, 1909.

[19]) C. Barus, Amer. J. Science Villiman 15 [4], 217 bis 223; Ref.: Chem. Centralbl. 2, 924, 1902; 1, 612 u. 861, 1903.

[20]) Chr. Ries, Phosphor- und Paraffinflamme im elektrischen Feld. Physikal. Zeitschr. 9. Jahrg., Nr. 3, S. 110.

[21]) E. Jungfleisch, Compt. rend. d. l'Acad. d. Sciences 140, 144 bis 149; Ref.: Chem. Centralbl. 1, 851, 1905.

[22]) Václav Plavec, Arch. f. d. ges. Physiol. 104, 1 bis 63, 1904; daselbst ausführliches Literaturverzeichnis.

[23]) Plavec, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 48, 150.

[24]) Selmi, Arch. d. Pharmakol. III. 17, 253, 1880; 19, 276, 1881.

[25]) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1901.

[26]) G. v. Bergmann und Savini, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 817, 1907.

[27]) Letheby, Berl. klin. Wochenschr. 1870, 5.

[28]) H. Korte, Über die Haltbarkeit des Phosphoröls. Inaug.-Diss. Bern. 1906.

[29]) P. Bohrisch, Pharmac. Centralhalle 50, Nr. 2, S. 19, 1909; Nr. 3 usw.; daselbst ausführliche Literatur über Phosphoröl.

[30]) Elster und Geitel, Annal. d. Physik 2, 425, 1900.

[31]) W. Straub, Arch. d. Pharmakol. 241, 5, 1903.

[32]) Gerlinger, Centralbl. f. inn. Med. 1902, 14.

[33]) Dybkowsky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1866, 49.

[34]) Schuchardt, Maschkas Handbuch d. gerichtl. Med. 2, 1882.

[35]) Lecorché, Arch. de physiol. norm. et pathol. 1869, 97.

[36]) M. Kochmann, Extr. des Annales de la Société de Médec. de Gand 86, 284.

[37]) Hermann, Lehrb. d. Toxikol. 1874; Arch. f. d. ges. Physiol 3, 1, 1870.

[38]) Haußer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 36, 165, 1895.

[39]) Henri Dufour, Physikal. Zeitschr. 5, 259.

Über labile, ineinander verwandelbare Isomere der gleichen Struktur.

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem.)

(Eingegangen am 10. Juni 1911.)

Vor der Entdeckung der Isomerieerscheinungen dachte man sich die Eigenschaften chemischer Verbindungen allein von der Art und der Anzahl der im Molekül vereinigten Elementaratome abhängig.

Die Tatsache der Existenz isomerer Verbindungen, d. h. Verbindungen, die bei gleicher Zusammensetzung und gleicher Molekulargröße verschiedene Eigenschaften besitzen, nötigte dazu, auch die Art der gegenseitigen Gruppierung der Atome im Molekül als einen weiteren, die Eigenschaften einer chemischen Verbindung bestimmenden Faktor in Betracht zu ziehen.

Wenn aber die Eigenschaften isomerer Verbindungen von der verschiedenen Lage der Atome im Molekül abhängig sind, so müssen die Atome eine gegenseitig fixierte Stellung im Molekül einnehmen, woraus sich eine wesentliche Beschränkung der ursprünglich denkbaren intramolekularen Bewegungen der Atome ergibt.

Die Strukturchemie, die seit ihrer Aufstellung die glänzendsten Erfolge zu verzeichnen hat, läßt intramolekulare Bewegungen, die zu einem Platzwechsel von den an zwei verschiedenen mehrwertigen Atomen gebundenen Elementen oder Radikalen führen würde, nicht zu, da andernfalls die Isomerie:

$$\begin{array}{c} CHCl_2 \\ | \\ CH_3 \end{array} \quad \text{und} \quad \begin{array}{c} CH_2Cl \\ | \\ CH_2Cl \end{array}$$

nicht denkbar wäre.

Sobald in einzelnen Fällen ein solcher Platzwechsel eines einwertigen Elementes von einem zum anderen mehrwertigen Elemente durch die besondere Art der Konstitution möglich wird, ist die Existenz labiler strukturverschiedener Moleküle die Folge.

Diese labilen strukturverschiedenen Modifikationen, die man als tautomer oder desmotrop bezeichnet, lassen sich durch die allgemeine Formel darstellen:

$$El\begin{matrix} \diagup El' \\ \diagdown El''R \end{matrix} \longrightarrow El\begin{matrix} \diagup El'R \\ \diagdown El'' \end{matrix}$$

in der El = C und N, El' und El'' = CN und O und R = H oder Alkyl bedeutet.

Die Stereochemie, deren Erfolge nicht hinter denen der Strukturchemie zurückstehen, hat eine weitere Beschränkung der Bewegungsfreiheit der Atome im Molekül zur Folge gehabt, da durch sie auch alle Bewegungen, die zu einem beliebigen Platzwechsel von Atomen, die an das nämliche mehrwertige Element gebunden sind, Veranlassung geben würden, ausgeschlossen werden.

Die konsequente weitere Anwendung des so erfolgreichen Erklärungsprinzips isomerer Verbindungen zwingt zu der Schlußfolgerung, daß nur solche isomere Verbindungen identisch sein können, bei denen alle Teile des Moleküls eine vollständige Identität ihrer gegenseitigen Lage aufweisen. Wir sind daher genötigt uns die Moleküle entweder als bewegungslose, starre Gebilde mit konstanten Eigenschaften vorzustellen, oder wenn wir annehmen, daß im Molekül außer den durch die Struktur- und Stereochemie ausgeschlossenen Bewegungen noch andere intramolekulare Bewegungen möglich sind; es ist nach dem Gesagten klar, daß jegliche durch die angenommene Bewegung verursachte Lageverschiebung eine, wenn auch noch so geringe Verschiebung in den Eigenschaften zur Folge haben muß, die bei unseren so schlecht ausgebildeten Methoden für die Erkennung geringer Eigenschaftsunterschiede häufig genug der Beobachtung entgehen dürfte.

Nimmt man im Molekül eine periodische Bewegung an, bei der keine Gleichgewichtslagen, die zu neuen Ruhelagen

führen könnten, zu erwarten sind, so muß die Folge solcher Bewegung für die Moleküle die sein, daß die Eigenschaften der betreffenden Verbindung der Bewegung und den durch sie bewirkten Lageverschiebungen entsprechend fortgesetzt wechseln und mithin nicht mehr als konstant gelten können.

Nimmt man dagegen im Molekül solche Bewegungen an, bei denen infolge der Attraktion bestimmter Teile auf der Bewegungsbahn Gleichgewichtslagen zu erwarten sind, die unter geeigneten Bedingungen zu neuen Ruhelagen führen müssen, so wird man, da diese neuen Ruhelagen durch Eigenschaftsunterschiede in irgendeiner Beziehung ausgezeichnet sein müssen, zur Annahme von neuen, weder durch die Struktur- noch die Stereochemie erklärbaren labilen, d. h. unter bestimmten Bedingungen ineinander überführbaren Isomeren geführt.

Je nach der Leichtigkeit, mit der solche labilen Isomere von der einen in die andere Ruhelage übergehen können, wird man verschiedene Erscheinungen beobachten können.

In bestimmten Fällen wird es möglich sein, die den verschiedenen Ruhelagen entsprechenden Modifikationen nur in festem krystallinischen Zustand durch verschiedene Krystallform nachzuweisen, im gelösten, flüssigen oder gasförmigen Zustand aber dürfte die durch die Wärmezufuhr wieder eintretende Bewegung alle den einzelnen Bewegungsphasen entsprechenden verschiedenen gegenseitigen Lagen im Molekül hervorbringen, so daß in den genannten Zuständen die Unterschiede verwischt erscheinen und die Eigenschaften der Verbindung als Durchschnittseigenschaften aller bei der Bewegung denkbaren gegenseitigen Lagen aufgefaßt werden müssen.

Wie mir scheint, gelangt man auf diesem Wege, ausgehend von dem bewährten Erklärungsprinzip für Isomerie, ganz ungezwungen zu einer Erklärung für das Auftreten von krystallographisch verschiedenen Modifikationen bei organischen Substanzen, die weder durch die Struktur- noch die Stereochemie erklärt werden können.

Derartige Modifikationen hat man bisher mit Vorliebe als polymorphe Modifikationen aufgefaßt und damit die Vorstellung verknüpft, daß ihr Auftreten unabhängig von den Lageverhältnissen im chemischen Molekül zustande käme und deshalb für die Chemie von untergeordnetem Interesse sei.

Wie mir scheint, deckt sich die hier entwickelte Auffassung polymorpher Modifikationen im wesentlichen mit der von Fock[1]) vertretenen Ansicht und dem Standpunkt, den Haug und Pasteur, wie Fock erwähnt, der Polymorphie gegenüber einnehmen.

In anderen Fällen dagegen werden die den denkbaren Ruhelagen entsprechenden isomeren Modifikationen nicht nur im krystallinischen, sondern auch im gelösten, flüssigen und gasförmigen Zustand eine gewisse Beständigkeit besitzen und der Übergang von einer Ruhelage in die andere erst durch Einwirkung bestimmter umlagernder Agenzien bewirkt werden müssen.

Für die experimentelle Bearbeitung werden solche weniger labile isomere Modifikationen sehr viel bequemer sein, da es möglich sein wird, sie mit Sicherheit zu fassen und genau zu untersuchen.

Aus den mitgeteilten theoretischen Betrachtungen ergibt sich also, daß die Struktur- und Stereochemie die von vorneherein denkbare intramolekulare Bewegungsfähigkeit der Atome im Molekül durch Annahme ihrer gegenseitig fixierten Stellung wesentlich beschränkt.

Die aus einer vollständigen Aufhebung jeglicher intramolekularen Bewegung sich ergebende Vorstellung von absolut starren Molekülen erscheint nicht zulässig, da die Funktionen, die die organischen Substanzen im Pflanzen- und Tierorganismus zweifellos ausüben, nur mit intramolekular beweglichen Molekülen denkbar sind. Mit der intramolekularen Bewegung im Molekül müssen auch dessen Eigenschaften innerhalb eines gewissen Intervalls variieren, d. h. das Molekül gewinnt dadurch gewissermaßen die Fähigkeit der Anpassung.

Solange man sich, wie dies meist geschieht, darauf beschränkt, von den Eigenschaften der Verbindungen nur die Schmelztemperatur zu berücksichtigen, dürfte es allerdings kaum möglich sein, die von der Theorie geforderten Eigenschaftsschwankungen bei intramolekular beweglichen Molekülen jedesmal nachzuweisen.

Für die Rolle, die die organischen Verbindungen im Haushalt der Pflanze zu spielen haben, scheint mir von allen Eigen-

[1]) A. Fock, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 4527, 1909.

schaften die Schmelztemperatur die wenigst wichtige zu sein, wohingegen andere Eigenschaften, wie Löslichkeit, Reaktionsgeschwindigkeit, die Fähigkeit leicht zersetzliche Additionsprodukte zu bilden, ferner die größere oder geringere Neigung zu krystallisieren — gerade die geringe Neigung zu krystallisieren ist bei den Eiweißstoffen diejenige Eigenschaft, die diese Stoffe für die ihnen im Organismus zufallenden Aufgaben geschickt macht — und andere physikalische Eigenschaften für ihre Verwendbarkeit im lebenden Organismus viel wichtiger sind, denen jedoch bei der gewöhnlichen chemischen Bearbeitung der Substanzen ein weit geringeres Interesse entgegengebracht wird, als der so bequem festzustellenden Schmelztemperatur.

Da die Schmelztemperatur mit Vorliebe auch zum Identitätsnachweis benutzt wird, muß betont werden, daß bei gleichem Schmelzpunkt alle übrigen Eigenschaften und auch die Zusammensetzung verschieden sein können, woraus folgt, daß die Schmelzpunktsgleichheit allein niemals für die Identität maßgebend sein kann.

Nach dem Gesagten scheint es mir dringend notwendig, neben der Schmelztemperatur auch anderen Eigenschaften und Eigenschaftsunterschieden, auch den scheinbar geringsten, größere Beachtung zu schenken.

Denn, wenn auch geringe Eigenschaftsunterschiede für den Chemiker und Techniker von geringem Belang sein mögen, so können sie doch im Haushalt der Natur die größte Bedeutung gewinnen.

Ein schlagender Beweis für diese Behauptung ergibt sich aus dem Verhalten der d- resp. l-aktiven Verbindungen. Durch Analyse, Schmelzpunkt und Löslichkeit können diese Isomeren überhaupt nicht, sondern nur durch die verschiedene Drehung ihrer Lösungen und ev. durch die Hemiëdrie ihrer Krystalle unterschieden werden.

Die Verschiedenheit dieser Verbindungen, die vom chemischen Standpunkt aus betrachtet gleich Null ist, muß für den lebenden Organismus von größter Wichtigkeit sein, da sich die d- und l-Isomeren, den niedrigen Organismen gegenüber, gänzlich verschieden verhalten und sie sich, wie neuerdings z. B. bei d- und l-Kampfer gefunden wurde, durch verschiedene Giftigkeit auszeichnen.

Auch die Tatsache, daß die sonst völlig gleichen d- und l-Modifikationen mit dem nämlichen asymmetrischen Molekül Salze von ganz verschiedenen Eigenschaften bilden, ist sehr bemerkenswert.

Noch auf ein anderes, für die Biochemie sehr wichtiges Moment läßt uns die Betrachtung der le Bel-van't Hoffschen Theorie, die durch die klassischen Untersuchungen von E. Fischer glänzend bestätigt wurde, aufmerksam werden.

Überall in der lebenden Natur tritt uns eine unendliche Mannigfaltigkeit entgegen, die wir nur dann verstehen können, wenn wir annehmen, daß bereits die organischen Moleküle, aus denen die Organismen aufgebaut sind, eine große Mannigfaltigkeit in ihren Eigenschaften zu entfalten imstande sind.

Für die Existenzmöglichkeit unendlich vieler organischer Verbindungen von verschiedenen Eigenschaften schafft nicht nur das Gesetz der Atomverkettung, sondern weit mehr noch die le Bel-van't Hoffsche Theorie die Grundlage. Durch Kombination von mehreren asymmetrischen Kohlenstoffatomen wächst die Anzahl strukturgleicher Isomeren außerordentlich rasch (für n asymmetrische Kohlenstoffatome ist bekanntlich die Anzahl der Isomeren 2^n). Da diese strukturgleichen Isomeren sämtlich in ihren Eigenschaften verschieden sind, so gewinnt die Pflanze hierdurch die Möglichkeit, mit Molekülen der nämlichen Struktur sehr verschiedene Effekte hervorzubringen.

Eine weitere Steigerung der Variationsmöglichkeiten muß bei hochmolekularen Verbindungen dadurch bewirkt werden, daß die vorher besprochenen labilen Stellungen der Atome zueinander in solchen hochmolekularen Verbindungen in verschiedenen Kombinationen denkbar sind. An eine Isolierung der den einzelnen Kombinationen entsprechenden Modifikationen ist nicht mehr zu denken, vielmehr werden sich solche Verbindungen durch eine gewisse Veränderlichkeit im Verhalten auszeichnen.

Die im Voranstehenden mitgeteilten theoretischen Betrachtungen gaben mir die Veranlassung, einen Vorstoß in das so schwierig zu bearbeitende Gebiet labiler, weder durch die Struktur- noch die Stereochemie erklärbarer Isomeren zu wagen.

Über die labile Zimtsäure der Isoreihe.

Da ich früher Gelegenheit hatte, die von meinem Vater mit Iso- und Allozimtsäure ausgeführten Versuche zum größten Teil mit zu beobachten und nach den Resultaten nicht daran zweifelte, daß es sich hier gerade um solche labile Isomere der gleichen Konstitution handelt, wie sie im theoretischen Teil gekennzeichnet wurden, so lag es nahe, daß ich mich zunächst der erneuten Untersuchung der labilen Zimtsäuren der Isoreihe zuwandte, um so mehr als die Existenz sowohl der Isozimtsäuren meines Vaters als der von Liebermann in Zweifel gezogen wurde.

Für diejenigen Fachgenossen, die sich nicht selbst experimentell mit den labilen Zimtsäuren der Isoreihe beschäftigt haben, dürfte es nicht leicht sein, sich auf diesem Gebiete zurechtzufinden; ich halte es daher für angezeigt, bevor ich auf die eigenen Versuche eingehe, einen Überblick über die früheren Untersuchungen zu geben und diejenigen Beobachtungen besonders hervorzuheben, die für die Beurteilung der hier vorliegenden Verhältnisse von ausschlaggebender Bedeutung sind.

Die erste labile Zimtsäure der Isoreihe wurde von Liebermann bei Verarbeitung der Nebenalkaloide der Cocapflanze aufgefunden und als Isozimtsäure bezeichnet.

In zwei Abhandlungen[1]) teilt Liebermann die mit größter Sorgfalt ausgeführten Untersuchungen dieser Säure mit. Wer diese Abhandlungen liest, wird nicht den geringsten Zweifel hegen, daß die von Liebermann wiedergegebenen Beobachtungen vollstes Vertrauen verdienen.

Die Isozimtsäure unterscheidet sich danach von der bis dahin allein bekannten Zimtsäure durch ihre sehr viel größere Löslichkeit in Petroläther, Wasser, Alkohol und Äther, ferner durch einen um 76° tiefer liegenden Schmelzpunkt.

Durch die krystallographische Untersuchung des Herrn Dr. Fock wurde die Krystallform der Isozimtsäure, durch eine große Anzahl von Verbrennungen die Formel $C_9H_8O_2$ festgelegt.

---

[1]) C. Liebermann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 141 und 512, 1890.

Da es gelingt, die Isozimtsäure quantitativ in Zimtsäure umzulagern, ist zu schließen, daß sie mit der Zimtsäure struktur gleich ist.

Die quantitative Umwandlung von Iso- in Zimtsäure erfolgt:

1. durch Erwärmen der Isosäure mit dem 5 bis 6fachen Gewicht konz. Schwefelsäure, während $^{1}/_{4}$ Stunde auf 50°;

2. durch 4stündiges Erhitzen einer Schwefelkohlenstofflösung mit Jod auf dem Wasserbad. Die gebildete Zimtsäure schied sich in Form eines großen Krystalls ab, bestand also offenbar aus Storaxzimtsäure.

Unter anderen Bedingungen dagegen besitzt die Isozimtsäure in Lösungen, in Salzen und einigen Derivaten eine recht große Beständigkeit, wie die fogenden Versuche Liebermanns beweisen.

1. Eine Lösung der Isozimtsäure in Eisessig lieferte beim Eindampfen die Isozimtsäure unverändert zurück.

2. Das Kalksalz der Isozimtsäure wird weder bei wiederholtem Abdampfen noch beim Trocknen auf 125° umgelagert.

3. Der aus dem Silbersalz mit JCH_3 dargestellte Methylester der Isozimtsäure gibt bei der Verseifung wieder Isozimtsäure.

4. Aus dem bei der Behandlung der Isosäure mit PCl_5 entstandenen Chlorid wird bei der Behandlung mit Wasser Isozimtsäure zurückgebildet[1]).

Die interessanten Befunde Liebermanns stellen die Existenz der Isozimtsäure als eines neuen, chemischen Individuums von der Formel $C_9H_8O_2$ außer Frage.

Die zweite, gleichfalls von Liebermann[2]) entdeckte und eingehend studierte Zimtsäure ist die Allozimtsäure, die er bei der Aufarbeitung von neuem Rohmaterial neben Isozimtsäure beobachtete.

Da diese Säure der Formel $C_9H_8O_2$ in niedrig siedendem Petroläther sehr viel schwerer löslich ist als die Isozimtsäure — nach Liebermann löst sich

1 Teil Allozimtsäure in 49,2 bis 51,8 Teilen,
1 Teil Isozimtsäure in 6 Teilen —

---

[1]) C. Liebermann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 2510, 1890.
[2]) l. c

so gelang es Liebermann, die beiden Säuren durch Krystallisation aus Ligroin, aus dem sich Allozimtsäure zuerst ausscheidet, zu trennen.

Diese Trennungsweise beweist, daß sich die Verschiedenheit der beiden Säuren in der Ligroinlösung erhält.

Außer der auffälligen Verschiedenheit der Allosäure in der Löslichkeit in Ligroin ist zu erwähnen, daß die Allozimtsäure um 11° höher als die Isozimtsäure, nämlich bei 68°, schmilzt und, wie die ausgedehnte krystallographische Untersuchung lehrte, eine andere Krystallform besitzt als die Isosäure.

Da die Allosäure aus dem auf dem Wege über das Kalksalz gewonnenen Silbersalz unverändert wieder gewonnen werden konnte, so folgt daraus, daß ihr spezieller Charakter beim Durchgang durch diese Salze nicht verschwindet.

Für die Beurteilung der chemischen Verschiedenheit von Iso- und Allozimtsäuren sind die folgenden Beobachtungen Liebermanns[1]) von ausschlaggebender Bedeutung:

1. Die Addition von Wasserstoff an die Allosäure verlief etwas langsamer als bei der Isosäure, erforderte mehr Natriumamalgam und schließliches Erwärmen auf dem Wasserbad, lieferte aber die gleiche Phenylpropionsäure.

2. „Dagegen wollte mir die Überführung mit konz. Schwefelsäure in Zimtsäure, die bei der Isozimtsäure so glatt (quantitativ) verläuft, bei der Allozimtsäure nicht recht gelingen. Aus dem mit Wasser gefällten Produkt ließen sich nur etwa 20% der angewandten Substanz an Zimtsäure isolieren."

3. Auch gegen das Sonnenlicht verhalten sich Iso- und Allosäure ganz ähnlich, die letztere nur wie durchgehends etwas träger.

Da man von strukturgleichen isomeren Verbindungen, deren Charakter sich auch beim Durchgang durch Salze unverändert erhalten läßt, in chemischer Hinsicht nur ganz allein Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit erwarten kann, so muß aus der verschiedenen Geschwindigkeit bei der Wasserstoffaddition an Iso- resp. Allozimtsäure und bei der Umwandlung der beiden Säuren in Zimtsäure der unabweisbare Schluß gezogen werden, daß die beiden Säuren nicht nur physikalisch, sondern auch chemisch verschieden sind.

[1]) l. c.

Die Absicht Liebermanns, das gegenseitige Verhältnis von Allo- zu Isosäure noch weiter aufzuklären, wurde dadurch vereitelt, daß er bei erneuter Darstellung Isozimtsäure nicht mehr, sondern nur Allosäure gewinnen konnte.

Die Richtigkeit der von ihm ausgesprochenen Vermutung, daß das abgeänderte Reinigungsverfahren, insbesondere die Abscheidung als Anilinsalz, die Schuld trägt, läßt sich nicht bezweifeln.

Zwischen die Entdeckung der Iso- und Allozimtsäure durch Liebermann fällt die Entdeckung einer weiteren Isozimtsäure durch Erlenmeyer sen.[1]).

Von der Vermutung ausgehend, daß sich die beiden aus Zimtsäuredibromid entstehenden als α- und β-Bromzimtsäure bezeichneten Säuren nicht, wie bis dahin angenommen wurde, durch eine verschiedene Stellung des Bromatoms unterscheiden, vielmehr strukturgleich und beide als α-Bromzimtsäuren aufzufassen sind, die im gleichen Verhältnis wie Zimtsäure und Isozimtsäure zueinander stehen, untersuchte Erlenmeyer das Verhalten beider Säuren bei der Oxydation mit Permanganat. Da beide Säuren bei der Oxydation Benzaldehyd liefern, müssen sie durch die gleiche Strukturformel: $C_6H_5—CH=CBr—COOH$ ausgedrückt werden.

Aus der Umwandelbarkeit der sogenannten β-Bromzimtsäure in α-Bromzimtsäure schloß Erlenmeyer sen., daß die erstere Säure der Isozimtsäure entsprechen müsse, und es gelang ihm in der Tat aus ihr durch Reduktion mit Zink und Alkohol eine niedriger schmelzende, in Ligroin sehr leicht lösliche Isozimtsäure zu gewinnen, die er zuerst für identisch hielt mit der Liebermannschen Isozimtsäure.

Aus der krystallographischen Untersuchung von Haushofer ergab sich aber, daß es sich um eine neue, von der Liebermannschen Iso- und Allozimtsäure gänzlich verschiedene Isozimtsäure handelt.

Bei der Betrachtung der zentimetergroßen, prächtig ausgebildeten Tafeln der neuen Isozimtsäure gewinnt jeder die Überzeugung, es mit einem einheitlichen Körper, einem neuen chemischen Individuum zu tun zu haben.

---

[1]) E. Erlenmeyer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 3130, 1890; Liebigs Ann. 1, 287, 1895.

Wie die Isozimtsäure von Liebermann, ist auch diese durch sehr große Löslichkeit in Petroläther ausgezeichnet.

Die Säure schmilzt direkt nach der Darstellung über Schwefelsäure getrocknet bei 38° (vgl. 2. Abh., S. 5 und 8).

Zur Züchtung größerer Krystalle löst Erlenmeyer sen. die Zimtsäure lediglich durch Erwärmen mit der Hand in niedrig siedendem Petroläther. Beim Verdunsten der Lösung im Dunkeln scheidet sich die Säure in schönen großen Krystallen ab, deren Schmelzpunkt von 42 bis 46° gefunden wird. Dieser über 40° gefundene Schmelzpunkt ändert sich auch nach wiederholtem Schmelzen nicht, wenn man die Schmelze freiwillig erstarren läßt.

Auch bei öfterem Umkrystallisieren aus Petroläther (S. 10) findet keine Veränderung der Säure statt.

Wie die Erlenmeyersche Abscheidungsmethode lehrt, verträgt die Säure auch die Umwandlung in das Natriumsalz und ebenso (S. 9) in das Calciumsalz, da sie sich bei der Zersetzung der Salze unverändert wiedergewinnen läßt.

Unter gewissen Bedingungen läßt sich also die Isozimtsäure unverändert konservieren. Mit Anilin dagegen erhielt Erlenmeyer aus seiner Isozimtsäure das gleiche Anilinsalz vom Schmelzpunkt 83°, das Liebermann zuerst aus seiner Isozimtsäure, später aber auch aus der Allozimtsäure dargestellt hatte. Da sowohl Liebermann als auch Erlenmeyer bei der Zersetzung dieses Salzes stets Allozimtsäure erhielten, so schließt sich Erlenmeyer der Auffassung Liebermanns (B. B. 24, 1103) an, daß die Isozimtsäure bei der Bildung des Anilinsalzes in Allozimtsäure umgewandelt wird (S. 14, 15 und 18).

Von der größten Wichtigkeit ist es aber, daß Erlenmeyer (S. 15) die Beobachtung Liebermanns von der verschiedenen Umwandlungsgeschwindigkeit von Iso- und Allozimtsäure in gewöhnliche Zimtsäure durch konz. Schwefelsäure vollauf bestätigen konnte.

Danach findet die Umwandlung der neuen Isozimtsäure bei dem Verfahren von Liebermann quantitativ, die der künstlichen sowie der natürlichen Allosäure nur bis zu 40% statt.

Diese Verschiedenheit im chemischen Verhalten bei der Umwandlung läßt sich ungezwungen nur durch die Annahme von Isomerie erklären.

Ferner fand Erlenmeyer, daß bei länger dauernder Einwirkung von Zink und Alkohol auf die α-Bromallozimtsäure Isozimtsäure, bei kürzerer Einwirkungsdauer und Anwendung größerer Mengen ausschließlich oder vorzugsweise Allozimtsäure entsteht.

Die Verschiedenheit dieser Resultate veranlaßte Erlenmeyer (S. 10), die Einwirkung einer alkoholischen Bromzinklösung auf Allozimtsäure zu prüfen.

Dabei ergab sich das sehr interessante Resultat, daß die Allozimtsäure (0,5 g Allosäure mit 5 ccm Alkohol und 0,7 g Bromzink) durch die Wirkung des Bromzinks nach 4 Tagen in die Erlenmeyersche Isozimtsäure übergeführt wird. Beim Verdünnen mit Wasser schied sich erst ein Öl ab, das nach 14 Tagen vollständig in die charakteristischen Krystalle der Isozimtsäure E. vom Schmelzpunkt 40 bis 44° überging.

Einige der Krystalle wandelten sich bereits bald nach dem Herausholen aus der Lösung wieder in Allosäure um, indem sie porzellanartig wurden und den Schmelzpunkt der Allozimtsäure zeigten, andere hielten sich dagegen nach der Herausnahme auch im Sonnenlicht tagelang unverändert. Am interessantesten aber ist die Beobachtung, daß auch einige der in der wässerig alkoholischen Bromzinklösung befindlichen klaren Isozimtsäurekrystalle porzellanartig wurden, sodann aber bei zunehmender Konzentration der Bromzinklösung durch die Verdunstung nach einigen Tagen wieder hell und durchsichtig wurden.

Man kann also hier Verwandlung und Rückverwandlung von Allo- in Iso-, von Iso- in Allo- und endlich von Allo- in Isosäure direkt mit dem Auge verfolgen, und ich glaube, daß kein anderes Experiment als das hier erwähnte imstande ist, in gleichem Maße den Beobachter von dem Vorliegen labiler isomerer Modifikationen zu überzeugen.

Außer diesen durch Reagenzien veranlaßten Umwandlungen sind noch die spontanen Umwandlungen der Isosäure in die Allosäure zu besprechen.

Spontane Umwandlung der Isozimtsäure in Allozimtsäure.

Die erste spontane Umwandlung seiner Isozimtsäure in Allozimtsäure erwähnt Liebermann B. B. 24, 1, 1103 mit den Worten:

„Ursprünglich reine und klare Isozimtsäurekrystalle, die durch Stehen am Licht porzellanartig geworden waren, zeigten nach dem Umkrystallisieren aus Ligroin und Beseitigung von etwas Zimtsäure den Schmelzpunkt 67 bis 68° der Allozimtsäure."

Auch Erlenmeyer berichtet über eine allmähliche spontane Umwandlung von Isosäure in Allosäure (2. Abh., S. 10):

„Die Petroleummutterlauge[1]) schied beim allmählichen Verdunsten kleine farblose Blättchen aus, die durch Übereinanderlagerung weiß erschienen, aber bei 44° schmolzen. Nachdem diese wieder in Petroleum gelöst waren, schied sich beim Verdunsten eine große, farblose Platte vom Schmelzpunkt 44° ab. Nach einigen Wochen aber hatte sich deren Schmelzpunkt auf 55 bis 65° erhöht, ohne daß an dem Krystall eine äußerliche Veränderung wahrzunehmen war. Aus der Mutterlauge von diesem Krystall, die in verschlossenem Gefäß hingestellt worden war, hatten sich nach mehreren Wochen farblose Prismen abgeschieden, die bei 64 bis $66^{1}/_{2}$° schmolzen. Hiernach scheint es, daß die noch in Lösung gebliebene Isozimtsäure sich allmählich in Allozimtsäure verwandelt hat."

Im Hinblick auf die neueren Versuche von Biilmann ist der folgende Versuch von Erlenmeyer sen. (S. 11) von Wichtigkeit:

Isozimtsäure vom Schmelzpunkt 40 bis 45° wird geschmolzen. Nachdem die geschmolzene Säure am nächsten Tage freiwillig erstarrt war und wieder geschmolzen wurde, zeigte sie denselben Schmelzpunkt; als dann aber die geschmolzene Substanz durch Bewegen mit einem Platindraht sofort zum Erstarren gebracht war, schmolz sie beim Erwärmen erst bei 65 bis 68°.

Hiermit sind die Beobachtungen, die geeignet erscheinen, einen Einblick in das gegenseitige Verhältnis der beiden Isozimtsäuren zu der Allozimtsäure zu gestatten, erschöpft und es mögen im Anschluß hieran nur noch die Reduktionsversuche mit der höher schmelzenden β-Bromallozimtsäure Erwähnung finden.

Angeregt durch die Erlenmeyersche Darstellung seiner Isozimtsäure aus α-Bromallozimtsäure mit Zink und Alkohol, versuchten Liebermann und Scholz[2]) die aus Phenylpropiolsäure entstehende β-Bromallozimtsäure nach dem Erlenmeyerschen Verfahren in die zugehörige Zimtsäure zu verwandeln.

---

[1]) Gemeint ist natürlich niedrig siedender Petroläther.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 951, 1892.

Es gelang ihnen, bis 95% der Theorie an Allozimtsäure zu erhalten.

In seiner Annalenabhandlung beschreibt Erlenmeyer sen. (S. 21) seine in der gleichen Richtung ausgeführten Versuche, aus denen sich ergibt, daß er aus der auch von Liebermann angewandten β-Bromallozimtsäure seine so charakteristisch krystallisierende bei 44 bis 46° schmelzende Isozimtsäure erhalten hat. Der Unterschied im Resultat ist darauf zurückzuführen, daß Liebermann und Scholz die ursprünglich gebildete tiefer schmelzende Isozimtsäure durch Bildung des Anilinsalzes in die Allosäure überführten.

Aus den von Michael[1]) in der gleichen Richtung ausgeführten Versuchen scheint hervorzugehen, daß er bei den ersten Reduktionen der β-Bromallozimtsäure Erlenmeyersche Isozimtsäure erhalten habe, daß ihm aber bei späteren Versuchen die Wiedergewinnung aus unbekannten Gründen mißlang.

Dieses Mißlingen der späteren Michaelschen Versuche, der unter Vorbehalt gemachte Versuch Focks, die früher von ihm gemessene Liebermannsche Isozimtsäure durch eine etwas veränderte Auffassung der Krystalle mit der Allozimtsäure zu identifizieren[2]), ein Versuch, der sich nach der später an der von mir aufs neue, und zwar synthetisch gewonnenen Isozimtsäure Liebermanns, sowohl durch Söllner als auch durch Fock vorgenommenen Messungen als vollständig unzulässig erwies, sowie der Umstand, daß es Liebermann[3]) offenbar wegen Anwendung zu großer Allozimtsäuremengen nicht gelang, die von Erlenmeyer aufgefundene Umwandlung von Allo- in Isozimtsäure auszuführen und daß es ihm durch die Anwendung der Anilinmethode nicht mehr möglich war, seine Isozimtsäure aus den Cocarückständen zu gewinnen, war natürlich nicht dazu angetan, das Vertrauen zu der Existenz der beiden Isozimtsäuren zu erhöhen.

Gleichwohl kommt Liebermann (B. B. 36, 182) nach Besprechung des Identifizierungsversuchs von Fock zu dem folgenden Schluß:

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 3640, 1901; 36, 900, 2497, 1903.
[2]) Ebenda 27, 2050, 1894.
[3]) Ebenda 31, 2096, 1898.

„Immerhin bleibt die Frage unerklärt, warum dieselben Formen der ersten Isozimtsäure nie wieder beobachtet worden sind. Auch die große Löslichkeitsdifferenz der Iso- und Allozimtsäure dem Ligroin gegenüber ist bisher nicht aufgeklärt. . . .“

„Nach alledem halte ich mich noch nicht für berechtigt, die Isozimtsäure als Individuum fallen zu lassen. Einige Differenzen sind entschieden noch nicht aufgeklärt, und die Beobachtungen von Erlenmeyer und Michael mahnen dazu, die Möglichkeit einer selbständigen Existenz von Iso- neben Allozimtsäure nicht aus den Augen zu verlieren. Die Frage liegt gegenwärtig darin, ob man gewisse Eigenschaftsunterschiede noch durch kleine Verunreinigungen erklären darf, oder sie dem zeitweisen Vorhandensein einer sehr labilen Modifikation (der Isosäure) zuschreiben muß.“

Die Verunreinigungshypothese ist nicht anwendbar, da die drei labilen Zimtsäuren der Isoreihe sowohl durch die krystallographische Messung als Individuum festgelegt sind und zudem noch das Vorhandensein von Verunreinigungen in den angezweifelten Isozimtsäuren durch die quantitative Überführung in Zimtsäure ausgeschlossen ist.

Auch auf die zuletzt erwähnten negativen Resultate Liebermanns und Michaels darf man keinen besonderen Wert legen, da sie lediglich zeigen, daß die Entstehungs- und Existenzbedingungen dieser labilen Isomeren noch nicht mit voller Sicherheit festgestellt sind, man hat sich vielmehr allein an die zuerst besprochenen, positiven Ergebnisse der sorgfältigen Untersuchung von Liebermann und Erlenmeyer sen. zu halten, aus denen sich die folgenden Schlüsse ergeben:

1. Es existieren drei labile, mit der gewöhnlichen Zimtsäure isomere Säuren:

1. die Isozimtsäure von Erlenmeyer sen.,
2. „ „ „ Liebermann,
3. „ Allozimtsäure „ „

welche

a) durch ihre untereinander verschiedene Krystallform,

b) durch verschiedene Schmelzpunkte und verschiedene Löslichkeit charakterisiert sind.

2. Die drei Säuren sind innerhalb gewisser, noch nicht mit Bestimmtheit festgestellter Grenzen in Lösungen und bei dem Durchgang durch gewisse Salze und Derivate beständig.

3. Andrerseits aber besitzen sie die Fähigkeit der Umwandlung, und zwar wurde festgestellt:

a) Die spontane Umwandlung der Isosäuren in Allozimtsäure sowohl in Lösung als beim Aufbewahren, auch in geschlossenen Gefäßen.

b) Die Umwandlung der beiden Isosäuren bei der Bildung des Anilinsalzes in Allozimtsäure.

c) Die Umwandlung der Allozimtsäure in die Erlenmeyersche Isozimtsäure durch alkoholische Bromzinklösung.

d) Die Umwandlung der beiden Isosäuren sowie der Allozimtsäure in gewöhnliche Zimtsäure durch konz. Schwefelsäure.

4. Die Säuren zeigen eine verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit

a) bei der Umwandlung durch Schwefelsäure in gewöhnliche Zimtsäure,

b) bei der Reduktion der Liebermannschen Iso- und Allozimtsäure.

Diese letztere Verschiedenheit schließt Polymorphie der Säuren aus und entscheidet für die chemische Isomerie.

Über die Wiederauffindung der beiden Isozimtsäuren.

Nach dem von Liebermann und Erlenmeyer sen. mitgeteilten Beobachtungsmaterial war ich davon überzeugt, daß die Isomerie bei den labilen Zimtsäuren der theoretischen Betrachtungen in der Einleitung entsprechend auf irgendwelche Verschiedenheit in der gegenseitigen Lage der Atome zurückzuführen sei und versuchte, mir deshalb die Beziehungen der labilen isomeren Zimtsäuren zueinander durch die folgende sich möglichst eng an die Vorstellungen von van t'Hoff und le Bel anschließende Arbeitshypothese verständlich zu machen, deren Prüfung dem Experiment zugänglich war.

Da sich die geometrisch isomeren Äthylenderivate durch äußeren Anstoß ineinander umwandeln lassen, wobei man eine Drehung um die gemeinschaftliche Achse, die für gewöhnlich erschwert ist annehmen kann, so hat man sich vorzustellen, daß zwischen der einen und der anderen geometrischen Konfiguration bei der Drehung, je nachdem sie über den oberen oder unteren Halbkreis erfolgt, zwei labile Zwischenlagen passiert werden, die unter günstigen Bedingungen zu labilen Ruhelagen werden

und somit die Existenz labiler Isomeren zur Folge haben könnten.

Bei den beiden labilen Zwischenlagen kommen die vier Radikale auf die Ecken eines von der Gruppe C = C gebildeten langgestreckten Tetraeders zu liegen, und zwar so, daß in diesen beiden Lagen die Moleküle Spiegelbilder zueinander bilden. Der Umstand, daß die Untersuchungen von Erlenmeyer sen. und Liebermann einen genetischen Zusammenhang der beiden Isosäuren nicht ergeben hatte, die Isosäure Liebermanns vielmehr nur aus natürlicher Quelle genommen werden konnte, ließ sich dann der obigen Hypothese entsprechend in folgender Weise erklären.

Faßt man die Erlenmeyersche Isosäure und die gewöhnliche Zimtsäure als die auch sonst bekannten zwei geometrischen Isomeren auf, so könnten den beiden räumlichen, labilen Zwischenlagen zwei enantiomorphe labile Zimtsäuren entsprechen, die zusammen auftretend eine Racemverbindung liefern müßten. Die nur aus natürlicher Quelle erhaltene Liebermannsche Isozimtsäure könnte man als die eine Komponente und die auch künstlich darstellbare Allozimtsäure gewissermaßen als Racemverbindung dieser und ihrer noch nicht bekannten Gegenverbindung auffassen.

Die Feststellung hemiedrischer Ausbildung einer Krystallisation der Allosäure durch Fock[1]) und die offenbar recht beträchtliche Ähnlichkeit zwischen Isosäure L. und Allosäure, wonach Fock sogar ihre Identität für möglich hielt, schienen zugunsten dieser Hypothese zu sprechen, ebenso die Beobachtungen, die ich kurz vorher zusammen mit Arnold[2]) bei der Einwirkung von d- und l-Isodiphenyloxäthylamin auf Zimtaldehyd gemacht hatte, daß nämlich der Zimtaldehyd sich mit den aktiven Basen zu zwei verschiedenen isomeren Verbindungen vereinigt.

Vor der experimentellen Prüfung der angeführten Hypothese war es notwendig, die angezweifelte Existenz der Erlenmeyerschen Isozimtsäure, welche die bisher unbekannte geometrisch isomere Zimtsäure sein sollte, durch erneute Darstellung nach seiner Methode außer Zweifel zu stellen.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 1104, 1891.

[2]) Liebigs Ann. 337, 307, 1904.

Darstellung der Allozimtsäure und der Isozimtsäure Erlenmeyers aus α-Bromallozimtsäure von Erlenmeyer jun. und Allen[1]).

Bei der Darstellung der von Erlenmeyer sen. entdeckten Isozimtsäure aus der α-Bromallozimtsäure, die bisher als β-Bromzimtsäure bezeichnet wurde, mit Zinkstaub und Alkohol verfuhren wir genau nach der Vorschrift des genannten Autors.

Es zeigte sich dabei, daß es vorteilhaft ist, die Versuche in der kälteren Jahreszeit vorzunehmen, da im Sommer die Isosäure zu leicht in Allosäure verwandelt wird.

Von den vielen Versuchen teilen wir die folgenden im Februar ausgeführten Versuche zur Veranschaulichung der Arbeitsmethode mit.

4 g fein gepulverte α-Bromallozimtsäure wurden mit 7,2 g Zinkstaub trocken in einem kleinen Erlenmeyerschen Kölbchen gemischt. Zu dieser Mischung wurden unter Abkühlen und Schütteln 80 ccm 95%igen kalten Alkohols zugegeben.

Die Mischung blieb dann 5 Tage in einem vor Licht geschützten Raum stehen. Wir benutzten zu diesem Zweck eine größere Pappschachtel, mit der wir die Gefäße überdeckten. Von Zeit zu Zeit wurde die feste Zinkstaubmasse mit einem Glasstab zerkleinert. Nach der angegebenen Zeit wurde filtriert und der Rückstand mit wenig 95%igem Alkohol ausgewaschen.

Die alkoholische Lösung wurde mit 20 ccm Wasser versetzt und der Alkohol auf dem Wasserbad verjagt. Sodann wurde bis zur alkalischen Reaktion Sodalösung zugesetzt und das dadurch abgeschiedene Zinkcarbonat abfiltriert. Beim Ansäuern mit Salzsäure wurde eine ölige Trübung erhalten, die durch Schütteln mit niedrigsiedendem Petroläther aufgenommen wurde. Die Petrolätherlösung wurde nach dem Trocknen mit entwässertem Glaubersalz im Dunkeln freiwillig verdunstet.

Alsbald schieden sich langgestreckte linealartige Krystalle aus, die sowohl die Form als den Schmelzpunkt 68° der Allozimtsäure zeigten.

---

[1]) Die in folgendem mitgeteilte Untersuchung, über deren Resultate vorläufige Mitteilungen in den Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 3361, 1904 und **38**, 837, 1905 erschienen sind, wurden als ein Teil der Dissertation des Herrn Allen gedruckt. Durch die plötzliche Abreise des Herrn Allen nach Amerika fand sie leider zur Promotion keine Verwendung und daher auch keine Verbreitung.

Bei einem zweiten Versuch wurden 3 g, also eine geringere Menge α-Bromallozimtsäure mit 5,4 g Zinkstaub ganz allmählich unter fortgesetzter guter Kühlung mit 60 ccm 95%igem Alkohol übergossen und die erkaltete Mischung wieder unter den gleichen Bedingungen wie beim ersten Versuch 5 Tage im Dunkeln stehen gelassen.

Die Verarbeitung geschah wie bei dem ersten Versuch. Die beim Ansäuern der Sodalösung erhaltene Trübung wurde wieder mit Petroläther aufgenommen und die Lösung nach dem Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur im Dunkeln verdunstet. Es hinterblieb ein dickes honiggelbes Öl, das einen angenehmen, an Cumarin erinnernden Geruch besaß. Da es nicht gleich erstarrte, wurde es nochmals in etwas mehr Petroläther durch Handwärme gelöst. Nach einiger Zeit schieden sich nunmehr kleine wasserklare Täfelchen von der charakteristischen Form der Erlenmeyerschen Isozimtsäure ab.

Durch nochmaliges Lösen und Verdunstenlassen gelang es endlich, größere meßbare Krystalle zu erzielen.

Herr Dr. Söllner hat eine dieser Tafeln vollständig gemessen und fand in jeder Hinsicht Übereinstimmung mit den Angaben von Haushofer, so daß dadurch die Identität beider Substanzen gesichert ist.

Die Analyse ergab die folgenden Werte:

Ber. f. $C_9H_8O_2$	Gef.
C 72,97	72,85
H 5,40	5,70

Der Schmelzpunkt der frisch bereiteten Säure lag meist, wie auch Erlenmeyer gefunden hat, unter 40°, nämlich bei 37 bis 38°.

Besonders merkwürdig ist das Verhalten der Isozimtsäure bei der Umlagerung in Allozimtsäure. Oft gelingt es, wie auch Erlenmeyer gefunden hat, Isozimtsäurekrystalle längere Zeit in klarem Zustand und ohne Erhöhung des Schmelzpunktes aufzubewahren, ein andermal werden die Krystalle unmittelbar beim Herausnehmen aus der Lösung porzellanartig und zeigen dann den Schmelzpunkt, die Löslichkeit und nach dem Wiederauskrystallisieren die Krystallform der Allozimtsäure; in anderen Fällen beobachtet man ein sehr allmähliches Trübewerden der

Krystalle und in einigen Fällen ließ sich die Umwandlung durch das Steigen des Schmelzpunktes feststellen.

Bei weiteren im August ausgeführten Reduktionen erhielten wir, so wie auch Michael gefunden hat, öfter zuerst das Öl von Isozimtsäure, das dann aber regelmäßig bei der weiteren Behandlung direkt in Allozimtsäure überging.

Bei einer Reihe von Versuchen, die im Oktober bei ca. 15° ausgeführt wurden, erhielten wir stets wieder die schönen Isozimtsäurekrystalle.

Einige im Winter dargestellte Isozimtsäurekrystalle wurden Anfang des Jahres 1906 Herrn Geh.-Rat Liebermann übersandt. Wie er mir mitteilte, fand er die Substanz bromfrei, ihren Schmelzpunkt bei 40° liegend. Herr Dr. Fock, der auf die Bitte des Herrn Geh.-Rat Liebermann die Krystalle untersuchte, fand bei der Messung dieselben Resultate wie Haushofer.

Damit sind die Angaben Erlenmeyers vollauf bestätigt.

Von neuen Versuchen mit der Isozimtsäure sei erwähnt die Bromaddition und die Bildung des neutralen Brucinsalzes

Isozimtsäuredibromid.

Bei der großen Labilität der Isozimtsäure kann man nur Versuche mit gut krystallisierten frisch bereiteten Präparaten anstellen und ist daher genötigt, nur kleinere Mengen in Anwendung zu bringen.

Einige Krystalle der Isozimtsäure wurden in wenig Schwefelkohlenstoff gelöst und die berechnete Menge Brom gleichfalls in Schwefelkohlenstoff gelöst hinzugegeben. Die nach der Zugabe rötlich gefärbte Mischung war nach etwa 2 Stunden farblos. Beim Verdunsten hinterblieb ein Öl, das auch nach langem Stehen im Exsiccator nicht erstarrte.

Beim Erhitzen mit Wasser tritt Zersetzung ein unter Bildung eines flüchtigen, nach Bromstyrol riechenden Körpers.

Isozimtsaures Brucin.

0,531 g Isozimtsäure = 1 Mol.-Gew. wurde in wenig Benzol gelöst und dazu eine Lösung von 1 Mol.-Gew. = 1,414 g Brucin in Benzol hinzugegeben. Die stark klebrige Lösung wurde im Exsiccator langsam verdunstet. Nach dem vollständigen Trocknen

erhält man eine zerreibliche gelatineartige Masse, die bei 56° schmilzt. An der Luft wird die gepulverte trockene Masse leicht klebrig. Die Analyse ergab:

	Ber. f. $C_9H_8O_2$, $C_{23}H_{26}N_2O_4$	Gef.
C	70,85	70,61
H	6,27	6,40

Die Bestimmung des Drehungsvermögens in absolutem Alkohol ergab:

$$[\alpha]_D = \frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot s \cdot d} = -16,45^0.$$

$\alpha = -16'$, $l = 20$ mm, $d = 1,008$ in 100 g absol. Alkohol bei 20°, $s = 0,8041$.

Bei der Zersetzung des Salzes mit verdünnter Salzsäure und sofortiger Extraktion mit Petroläther erhielten wir beim Verdunsten der Lösung neben wenig Allosäurekrystallen vorwiegend Krystalle der Isosäure.

Darstellung der Isozimtsäure (E.) durch Umwandlung der Allozimtsäure.

1. Durch alkoholische Bromzinklösung.

Nach der Vorschrift von Erlenmeyer wurden 0,5 g natürliche Allozimtsäure vom Schmelzpunkt 68° zusammen mit 0,7 g Bromzink in 5 ccm Alkohol gelöst. Die Lösung erfolgte ohne Wärmeentwicklung. Nach 6tägigem Stehen der Lösung im Dunkeln wurde mit 20 ccm Wasser versetzt und die ölige Ausscheidung sofort mit leicht siedendem Petroläther ausgeschüttelt. Die getrocknete Lösung ergab beim Verdunsten die charakteristischen Krystalle der Isozimtsäure E. vom Schmelzpunkt 37 bis 38°. Herr Dr. Söllner hat auch diese Krystalle gemessen und ihre Identität mit den von Haushofer gemessenen festgestellt.

2. Durch verdünnte Schwefelsäure.

Ebenso leicht findet die Umwandlung statt, wenn man eine alkoholische Lösung der etwa gleichen Menge Allozimtsäure wie bei dem ersten Versuch mit ca. 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure versetzt und mehrere Tage stehen läßt. Die Gewinnung der gebildeten Isozimtsäure geschieht, wie bei dem vorigen Versuch.

Hierdurch wird die von uns öfter gemachte Beobachtung verständlich, daß, wenn man bei der Gewinnung der Allozimtsäure aus ihrem Anilinsalz mit Schwefelsäure längere Zeit stehen läßt, beim Aufnehmen in Äther und darauffolgendem Verdunsten häufig nur Isozimtsäure auskrystallisiert, die sich jedoch meist plötzlich wieder in die Allosäure umwandelt.

Endlich haben wir uns auch davon überzeugt, daß die von Liebermann und Erlenmeyer ausgesprochene Vermutung richtig ist, daß die Isozimtsäure bei der Behandlung mit Anilin in das bei 83° schmelzende Anilinsalz übergeht, aus dem Liebermann jahrelang die Allozimtsäure gewonnen hat und aus dem auch Erlenmeyer sen. und auch wir Allozimtsäure erhielten.

Nachdem die Existenz der Erlenmeyerschen Isosäure durch unsere erneuten Versuche einwandfrei bewiesen worden ist, handelte es sich in zweiter Linie darum, die in der Einleitung angeführte Arbeitshypothese experimentell zu prüfen.

Da in dieser Abhandlung alle Beobachtungen, die für die Beurteilung der Frage nach der Art der Verschiedenheit der labilen Zimtsäuren der Isoreihe von Wichtigkeit sind, so zusammengestellt werden sollen, daß sich der mit den isomeren Zimtsäuren nicht vertraute Leser leichter als dies bisher an der Hand der Originalabhandlungen möglich war, ein eigenes Urteil zu bilden vermag, so halte ich es für angezeigt, die wichtigsten bei der Behandlung der Allozimtsäure mit Brucin erhaltenen Resultate, deren Zuverlässigkeit ich auch heute noch verbürgen kann, hier nochmals zusammen zu stellen. Die Zusammenstellung dieser sehr wichtigen Versuche scheint um so notwendiger, als meine früheren Mitteilungen[1]) einigen Fachgenossen, die sich neuerdings mit der Isomeriefrage der labilen Zimtsäuren befaßt haben, anscheinend entgangen sind.

Über die Salzbildung der Allozimtsäure mit Brucin.

1 Mol.-Gew. Brucin = 2,6 g wurden in 30 ccm absolutem Alkohol durch Erwärmen gelöst. Zu dieser Lösung wurde eine Lösung von 1 Mol.-Gew. = 1 g Allozimtsäure in 5 ccm Alkohol zugesetzt. Die durch die Mischung erhaltene sehr klebrige

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 2562 und 3496, 1905.

Lösung wurde bei gewöhnlicher Temperatur, möglichst vor Licht geschützt, im Vakuum bis auf etwa $^1/_5$ des ursprünglichen Volums eingeengt. Dabei bildete sich eine schöne Krystallisation. Aus der davon getrennten Mutterlauge schieden sich noch weiter Krystalle ab. Nachdem so 1,75 g Krystalle gewonnen waren, das ist die Hälfte der Gesamtmenge angewandter Substanz, (ber. 1,8 g) schieden sich aus der sehr dickflüssigen Mutterlauge keine Krystalle mehr ab. Bei fortgesetztem Trocknen im Vakuum wurde schließlich eine spröde, schwach gelblich gefärbte, glasige Masse erhalten, deren Gewicht nach dem Herauskratzen zu 1,4 g bestimmt wurde. Dieser Versuch, der sehr häufig mit dem gleichen Resultat wiederholt wurde, beweist, daß sich bei der Vereinigung der Allozimtsäure mit Brucin im Verhältnis 1 : 1 zu etwa gleichen Teilen zwei in Löslichkeit und Krystallisationsvermögen voneinander verschiedene Salze bilden, eine Erscheinung, wie man sie stets bei der Trennung von racemischen Säuren mit Alkaloiden beobachtet.

1. Krystallinisches Brucinsalz.

Das krystallinische Brucinsalz zeigte nach erneuter vorsichtiger Krystallisation aus Alkohol den Schmelzpunkt 151° und erwies sich frei von Krystallisationsmittel. Herr Dr. Fock hatte die Freundlichkeit, die Krystalle zu messen (Berl. Ber. 40, 656).

Bei der Verbrennung wurden die folgenden Zahlen erhalten:

	Ber. f. $C_9H_8O_2$, $C_{23}H_{26}N_2O_4$	Gef.
C	70,85	70,60
H	6,27	6,77

Eine Bestimmung des Drehungsvermögens in absolutem Alkohol ergab:

$$[\alpha]_D = \frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot s \cdot d} = -27{,}70^\circ.$$

$\alpha = -30'$, $l = 20$ cm, $d = 1{,}12$ g in 100 g absol. Alkohol bei 27° C und $s = 0{,}8052$.

2. Nichtkrystallinisches Brucinsalz.

Bei einigen Versuchen gewannen wir den Eindruck, daß unter günstigen Bedingungen auch das sonst als glasige Masse erhaltene Salz krystallinisch werden könnte, wie es mir zusammen

mit Barkow auch neuerdings gelungen war[1]), das früher nur amorph erhaltene l-phenylbrommilchsaure Cinchonin in Krystallen abzuscheiden.

Der höchste bei dem nichtkrystallinischen Brucinsalz beobachtete Schmelzpunkt lag bei 129°.

Die Analyse des trockenen Salzes ergab:

	Ber. f. $C_9H_8O_2$, $C_{23}H_{26}N_2O_4$	Gef.
C	70,85	70,64
H	6,27	6,71

Bei der Bestimmung des Drehungsvermögens wurde gefunden:

$$[\alpha]_D = -13{,}98^\circ.$$

$\alpha = -18'$, $l = 20$ cm, $d = 1{,}329$ g in 100 g absol. Alkohol bei 21° C und $s = 0{,}80729$.

Abscheidung der Säuren aus den beiden Brucinsalzen.

1. Säure aus krystallinischem Salz.

0,5 g des Salzes wurden mit wenig verdünnter Schwefelsäure übergossen und sofort zur Aufnahme der freigemachten Säure mit Äther geschüttelt. Abweichend von dem Verhalten ätherischer Allozimtsäurelösungen hinterließ der Äther beim Abdunsten ein Öl. Da dieses auch bei längerem Stehen im Exsiccator nicht krystallisieren wollte, wurde es durch Handwärme in niedrig siedendem Petroläther gelöst. Bei freiwilligem Verdunsten schieden sich zuerst zur Messung ungeeignete Krystalle von völlig anderem Habitus als dem der Allo- resp. Isozimtsäurekrystalle E. ab. Der Schmelzpunkt lag bei 58°, während Liebermann für seine Isozimtsäure den Schmelzpunkt 57° angibt.

Zur Gewinnung größerer meßbarer Krystalle wurde nochmals in Petroläther, in dem die Krystalle viel leichter löslich sind als die der Allozimtsäure, durch Handwärme gelöst und ganz langsam verdunsten gelassen.

Diesmal schieden sich größere einzelne Krystalle ab, die deutlich einseitig liegende Flächen aufwiesen. Der Schmelzpunkt lag jetzt bei 58 bis 59°.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 789, 1906.

Die ausführliche Messung, die Herr Dr. Söllner so freundlich war auszuführen, ergab vollständige Übereinstimmung mit der von Liebermann bisher nur aus natürlichen Quellen erhaltenen Isozimtsäure.

Isozimtsäure, gemessen von J. Söllner,
monoklin

$$a : b : c = 0{,}5555 : 1 : 0{,}4053; \ \beta = 70^\circ\, 8'.$$

Beobachtete Formen:

$b = (010)\,\infty P\infty$, $m = (110)\,\infty P$, $n = (120)\,\infty P2$, $p = (111)\,-P$.

Winkel	Gemessen	Berechnet
$m : m = (116) : (110) =$	$55^\circ\, 10'^*$	—
$m : p = (110) : (111) =$	$40^\circ\, 18'^*$	—
$p : p = (111) : (111) =$	$29^\circ\, 58'^*$	—
$m : n = (110) : (120) =$	$19^\circ\, 1'$	$18^\circ\, 40'$

Die farblosen, meist gut ausgebildeten Kryställchen sind säulig, nach der c-Achse zuweilen dicktaflig nach dem Klinopinakoid entwickelt. Unter den Flächen der Prismenzone sind die beiden Klinopinakoidflächen am größten, die Prismenflächen selbst nur schmal ausgebildet. Ebenfalls schmal sind die Flächen von $-P$. Aber alle diese Flächen sind glatt und eben, so daß sie genügend gute Messungen ermöglichen. Außer diesen Formen treten an den Krystallen in der Regel noch zwei verhältnismäßig groß entwickelte Flächen einer wahrscheinlich abgeleiteten positiven Pyramide (positiv nach der Naumannschen Bezeichnung) auf. Die beiden Flächen liegen vom Beschauer aus gesehen nur rechts von der Symmetrieebene, links fehlen sie, so daß es nicht unmöglich erscheint, daß die Krystalle in die sphenoidische Klasse (monoklin-hemimorphe Klasse) des monoklinen Systems gehören. Das Zeichen der beiden Flächen konnte nicht bestimmt werden, da die Flächen sehr stark gewölbt sind. Spaltbarkeit wurde nicht beobachtet.

Auf $\infty P\infty$ beträgt die Auslöschungsschiefe gegen die c-Achse im spitzen Winkel β ca. 20°. Die Lage der Ebene der optischen Achsen konnte nicht bestimmt werden.

Die Krystalle entsprechen in ihrer Ausbildung vollständig denen der früher von Fock (Berl. Ber. 23, 146) unvollständig beschriebenen Isozimtsäure. In der Prismenzone sind genau

die gleichen Formen und mit denselben Winkeln wie dort entwickelt. Ebenso tritt an den beiden Enden die vordere Hemipyramide nur hier mit gut meßbaren Flächen auf. Die dadurch ermöglichte Vervollständigung der krystallographischen Elemente der Isozimtsäure läßt keinen Zweifel mehr bestehen an der Selbständigkeit der Isozimtsäure gegenüber der Allozimtsäure. Die von Fock und Liebermann ausgesprochene Möglichkeit (Berl. Ber. 27, 2050) der Identität der Isozimtsäure mit der Allozimtsäure auf Grund einer zufälligen, annähernd einfachen Beziehung der beiden Prismen der Isozimtsäure zu der Länge der Achse a bei der Allozimtsäure ist damit wohl hinfällig.

Daß beim Achsenverhältnis der Isozimtsäure $a:b:c = 0{,}5555:1:0{,}4053$ die Achse a ungefähr $^1/_3$ der Achse a bei der Allozimtsäure und ebenso die Achse c ungefähr gleich $^2/_5$ der Länge der Achse c bei der Allozimtsäure ($a:b:c = 1{,}5972:1:1{,}0300$) ist, ist kein Beweis für eine Identität der beiden Substanzen. Dagegen spricht vor allen Dingen der völlig abweichende Wert von $\beta = 70^0\,8'$ anstatt $88^0\,38^1/_2'$ bei der Allozimtsäure. Ferner ist zu berücksichtigen, daß von den bei der Isozimtsäure auftretenden Formen keine einzige mit den gleichen Winkeln bei der Allozimtsäure beobachtet wurde. Schon der Gesamthabitus der Krystalle ist ein ganz anderer. Bei der Allozimtsäure treten im allgemeinen wesentlich Flächen aus der Orthodomenzone $\infty P \infty \cdot 0P \cdot -P\infty \cdot +P\infty \cdot +4P\infty$ auf, während bei den hier untersuchten Isozimtsäurekrystallen Flächen aus dieser Zone vollständig fehlen. Dagegen ist bei den Isozimtsäurekrystallen regelmäßig und vorwaltend $\infty P \infty$ entwickelt, der umgekehrt bei der Allozimtsäure nicht beobachtet wurde.

Herr Privatdozent Dr. Fock, dem ich später die Isozimtsäurekrystalle zur Untersuchung zusandte, äußerte sich darüber wie folgt:

„Nachdem ich die Untersuchung der freundlichst übersandten 3 Präparate beendet habe, bin auch ich der Ansicht, daß die Liebermannsche Isozimtsäure existiert. Die Identifizierung mit der Allozimtsäure, die ich für möglich hielt, ist nach der näheren optischen Untersuchung völlig ausgeschlossen. Zwar besteht auch in optischer Hinsicht große Ähnlichkeit, insofern bei beiden die Ebene der optischen Achsen senkrecht zur Symmetrieebene steht und überdies durch die Prismenflächen bei beiden eine optische Achse scheinbar um 30° geneigt gegen die zu-

gehörige Normale austritt. Aber da Ihre Präparate der Isozimtsäure die vollständige Krystallform zeigen, so konnte ich feststellen, daß hier bei der Isozimtsäure die erste Mittellinie in der Symmetrieebene liegt, bei der Allozimtsäure fällt dagegen die erste Mittellinie mit der Symmetrieachse zusammen.

Damit ist die Sache definitiv erledigt."

2. Säure aus dem nichtkrystallinischen Salz.

Bei der Darstellung der freien Säure aus dem leichter löslichen, nicht krystallinischen Brucinsalz wurde genau in der gleichen Weise wie bei dem ersten Salz verfahren. Die Petroltherlösung hinterließ auch hier zuerst wieder ein Öl, das aufs neue in Petroläther durch Handwärme gelöst wurde. Beim freiwilligen Verdunsten schieden sich schöne lange, wasserklare Säulen aus, die bei 59° schmolzen, aber in ihrem Habitus einen anderen Eindruck machten als die Säure aus dem ersten Salz.

Herr Dr. Söllner, der so freundlich war, auch diese Krystalle zu messen, teilte uns darüber folgendes mit:

Zweite Isozimtsäure.

„Die sehr dünnen Kryställchen sind säulenförmig entwickelt, wasserklar und zu radialstrahligen Büscheln aggregiert. An Krystallformen treten auf ein Prisma, das den säulenförmigen Habitus bedingt, und oben eine positive Pyramide. Am unteren Ende der Säulchen sind keine Krystallflächen, da hier die Kryställchen nur zusammengewachsen sind. Gut meßbar ist nur das Prisma, das vorne den für Isozimtsäure (Liebermann) charakteristischen Winkel von 55° 10′ zeigt.

Die Flächen der Pyramide sind wegen ihrer außerordentlichen Kleinheit und weil diese Flächen zudem ein wenig gewölbt sind, nur bis auf annähernd 1° genau meßbar gewesen. Die sehr steile Pyramide ergab das Zeichen $5P2$ unter Zugrundelegung des für die Liebermannsche Isozimtsäure berechneten Achsenverhältnisses:

$$a : b : c = 0{,}5555 : 1 : 0{,}4053$$
$$\beta = 70^{\circ}8'.$$

Beobachtete Formen: ∞P, $5P2$.

Winkel	Gemessen	Berechnet
$\infty P : \infty P$ vorne	$= 55^{\circ}16'$	—
$\infty P : 5P2$	$= 23^{\circ}1'$	$23^{\circ}49'$
$5P2 : 5P2$	$= 94^{\circ}30'$	$95^{\circ}53'$

Auf Spaltbarkeit konnte ebensowenig wie bei der ersten Isozimtsäure wegen der Kleinheit der Kryställchen untersucht werden.

Die Ebene der optischen Achsen steht senkrecht auf der Symmetrieebene. Auf den Prismenflächen tritt jeweils eine Achse etwas geneigt

aus. Die konvexe Seite der Hyperbeläste ist violett gefärbt, die konkave rot. Die Dispersion der Achsen ist ziemlich beträchtlich. $\varrho < v$.

Die Auslöschungsschiefe auf den Prismenflächen beträgt gegen die vordere Prismenkante gemessen im stumpfen Winkel β ca. 35°.

Die an den Kryställchen ausgebildeten wenigen Flächen gestatten keinen Hinweis auf einen etwaigen hemiedrischen Habitus derselben. Bei der zuerst untersuchten Isozimtsäure liegt infolge des regelmäßig einseitigen Auftretens von Pyramidenflächen die Wahrscheinlichkeit nahe, daß dieselbe der sphenoidischen Klasse des monoklinen Systems angehört und demnach als Rechts-Isozimtsäure aufzufassen wäre. Die hier untersuchte Isozimtsäure müßte alsdann der Links-Isozimtsäure entsprechen. Ob das der Fall ist, kann bis jetzt an dem vorhandenen Material nicht entschieden werden. Die Lösung dieser Frage auf krystallographischem Wege muß weiteren Untersuchungen an flächenreicheren Krystallen vorbehalten bleiben."

Eine optische Aktivität konnte weder bei der Lösung der aus dem krystallinischen Salz erhaltenen hemiedrischen Isozimtsäure, noch bei der Lösung der aus dem leichter löslichen Salz erhaltenen festgestellt werden.

Es wurden noch mehrere Trennungen durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß in der heißen Jahreszeit weder die eine noch die andere Isozimtsäure krystallisiert erhalten werden kann, daß vielmehr die zuerst gewonnenen Öle sehr rasch in Allozimtsäure zurückverwandelt werden.

Bei einer im September durchgeführten Trennung wurden die Säuren aus beiden Salzen wieder in schönen Krystallen erhalten, die nach der Untersuchung des Herrn Dr. Söllner mit den zuerst gemessenen Krystallen übereinstimmen.

Außer den in der Einleitung erwähnten Punkten spricht das Verhalten der Allozimtsäure bei der Salzbildung mit Brucin sehr zugunsten der aufgestellten Arbeitshypothese, die ja die Veranlassung zur Ausführung der mitgeteilten Versuche gegeben hatte.

Wie bei der Trennung einer racemischen Säure durch ein Alkaloid zwei isomere Salze von verschiedener Löslichkeit und verschiedenem Krystallisationsvermögen, die verschieden stark drehen, entstehen und aus denen zwei unter sich identische, von der racemischen Säure aber verschiedene Säuren entstehen, deren entgegengesetzte molekulare Asymmetrie durch die entgegengesetzte Aktivität ihrer Lösungen und das Auftreten von rechts resp. links liegenden hemiedrischen Flächen erkannt

wird, so bildeten sich auch bei der Allozimtsäure mit Brucin zwei in Löslichkeit, Krystallisations- und Drehungsvermögen verschiedene Salze, bei deren Zersetzung zwei stofflich gleiche, von der Allosäure verschiedene Säuren erhalten wurden, die den Schmelzpunkt und die Krystallform der so lange verloren geglaubten Liebermannschen Isozimtsäure besaßen.

Da sogar die eine dieser Säuren rechts liegende hemiedrische Flächen zeigte, so schien die Hypothese durch diese Befunde wohl gestützt. Der Umstand aber, daß keine der Säuren in Lösung optische Aktivität zeigte und daß es trotz vieler Versuche nicht gelang, aus dem leichter löslichen Brucinsalz eine links hemiedrisch ausgebildete Isozimtsäure zu gewinnen, und endlich die Beobachtung von Fock, daß neben den Krystallen der Liebermannschen Isozimtsäure auch in geringer Menge Krystalle einer höher schmelzenden triklinen Säure auftreten, veranlaßte uns, die Erscheinungen, die bei der Salzbildung der Allozimtsäure mit Brucin auftreten, nicht allein von dem Gesichtspunkte einer Trennung aus anzusehen, sondern auch die Möglichkeit, daß bei der Salzbildung durch Umwandlung der Allozimtsäure ähnliche Erscheinungen wie die beobachteten zu erwarten sind, in der Folge näher ins Auge zu fassen.

Neuere Versuche mit den labilen Zimtsäuren der Isoreihe von Erlenmeyer jun., C. Barkow und O. Herz[1]).

Zunächst wurde die Salzbildung der Allozimtsäure mit Brucin aufs neue studiert.

Zum Unterschied von früher wurde die Salzbildung in etwas konzentrierterer Lösung vorgenommen.

Je 1 g Allozimtsäure und 2,66 g wasserfreies Brucin wurden unter gelindem Erwärmen in 10 ccm absolutem Alkohol gelöst und die Lösung im Vakuum zur Krystallisation gestellt. Genau wie bei den anderen Versuchen scheidet sich zuerst das schön krystallisierende Brucinsalz vom Schmelzpunkt 151° ab. Nachdem eine weitere Krystallisation nicht mehr erfolgte, wurde die Mutterlauge im Vakuum vollständig eingedampft. Wie

---

[1]) Vgl. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 653, 1907.

früher beobachtet, erhält man so einen Sirup, der schließlich amorph fest wird.

Beide Salze sind alkoholfrei.

Die Bestimmung der Zimtsäure in dem krystallinischen Salz durch Titration ergab:

1. 0,5 g Salz enthalten . . . . . . 0,135 g Zimtsäure
   für $C_9H_8O_2, C_{23}H_{26}N_2O_4$ berechnet 0,136 g „

2. 0,2551 g Salz enthalten . . . . 0,066 g Zimtsäure
   für $C_9H_8O_2, C_{23}H_{26}N_2O_4$ berechnet 0,069 g „

Die Bestimmung der Zimtsäure in dem leichter löslichen Salz durch Titration ergab:

0,5213 g Salz enthalten . . . . . . 0,142 g Zimtsäure
für $C_9H_8O_2, C_{23}H_{26}N_2O_4$ berechnet . 0,142 g „

Durch diese Bestimmungen ist die Isomerie der beiden in ihren Eigenschaften verschiedenen Brucinsalze außer Frage gestellt.

Wie die früheren, drehen auch diese neu dargestellten Salze verschieden.

Bei der Polarisation der beiden Salze in gleichprozentiger Lösung wurde gefunden:

für das krystallinische Salz . . —16′
„ „ amorphe Salz . . . . —6′

Während bei den mit Allen ausgeführten Versuchen die beiden Salze meist in annähernd gleichen Mengen erhalten worden waren, fanden wir, daß die Mengen der beiden Salze wechseln können, was zugunsten von Umwandlungsvorgängen bei den Salzen spricht.

Zur Gewinnung der den beiden Salzen zugrunde liegenden Säuren wurden dieselben mit wenig sehr verdünnter Schwefelsäure rasch zersetzt, die freigewordenen Säuren direkt mit Petroläther ausgeschüttelt und die getrocknete Petrolätherlösung freiwillig im Dunkeln verdunsten gelassen.

Die aus dem krystallisierten Salz vom Schmelzpunkt 151° erhaltene Säure schied sich in schönen Krystallen ab, die, wie auch früher gefunden, bei 58 bis 59° schmolzen. Die hintereinander abgeschiedenen Krystallisationen wurden Herrn Dr. Fock zur Untersuchung übergeben, der die völlige Identität mit der von Söllner gemessenen Isozimtsäure (L.) feststellte.

Die dem nicht krystallinischen Salz zugrunde liegende Säure blieb zuerst als Öl zurück, das nach vieltägigem Stehen krystallinisch erstarrte. Erst nach häufigem Krystallisieren aus Petroläther, wobei zur Lösung stets die Handwärme benutzt wurde, gelang es, Einzelkrystalle zu bekommen, die den Schmelzpunkt 58 bis 59° zeigten und nach den Messungen von Herrn Dr. Fock den Winkel der Isozimtsäure besaßen.

Isozimtsäure (Schmelzpunkt 59°) gemessen von Fock, monoklin

$$a : b : c = 0{,}5540 : 1 : 0{,}4046$$
$$\beta = 109^\circ\, 53^1/_2{}'.$$

Beobachtete Formen: $b = (010)$, $m = (110)$, $n = (120)$, $p = (111)$ und $c = (001)$.

Die Krystalle sind teils tafelförmig nach b (010), teils mehr prismatisch nach der Vertikalachse, und bis zu 5 mm lang und 1 mm dick. Von den angegebenen Formen ist vielfach das Prisma m (110) allein ausgebildet, und der von den Flächen desselben gebildete Winkel zeigt bei einzelnen Krystallisationen große Schwankungen. Der angegebene Wert bildet das Mittel der Messungen an zahlreichen Präparaten. Neben m (110) ist am häufigsten p (111), seltener noch n (120); c (001) wurde nur an einzelnen Individuen in unvollkommener Ausbildung aufgefunden.

	Beobachtet		Berechnet
	Söllner	Fock	
$m : m = (110) : (\bar{1}\bar{1}0) =$	55° 10′	55° 2′*	—
$m : p = (110) : (111) =$	40° 18′	40° 16′*	—
$p : p = (111) : (1\bar{1}1) =$	29° 58′	29° 54′*	—
$m : n = (110) : (120) =$	19° 1′	18° 49′	18° 39$^1/_2$′
$m : c = (110) : (001) =$	—	ca. 72°	71° 32′
$p : n = (111) : (120) =$	—	—	46° 28′
$p : m = (111) : (1\bar{1}\bar{6}) =$	—	58° 23′	58° 21′
$p : n = (111) : (1\bar{2}0) =$	—	—	71° 33′

Spaltbarkeit ist nicht beobachtet.

Ebene der optischen Achsen senkrecht zur Symmetrieebene und ca. 69° gegen die Vertikalachse im stumpfen Winkel β geneigt.

Erste Mittellinie in der Symmetrieebene.

Wahrer Winkel der optischen Achsen etwas kleiner als der Prismenwinkel; durch den Prismenwinkel (110) tritt je eine

Achse scheinbar ca. 30° gegen die Normale geneigt aus. Starke Dispersion der Achsen.

Obwohl der Versuch mit der gleichen Allozimtsäure ausgeführt worden war wie vorher, ließ sich diesmal neben den Isozimtsäuren die früher aufgefundene trikline Zimtsäure nicht nachweisen. Ihr früheres Auftreten muß daher auf eine Umwandlung zurückgeführt werden.

Daß bei nur geringen Abänderungen im Arbeitsverfahren bei der Abscheidung der labilen Säuren aus den Salzen Umwandlungen der Säuren möglich sind, ergibt sich aus der oben erwähnten öfteren Gewinnung der Isosäure E. aus allozimtsaurem Anilin. Wie gezeigt, hat man diese Umwandlung auf die umlagernde Wirkung der freien Schwefelsäure zurückzuführen. In der nämlichen Weise hat man sich auch die zweimal beobachtete Bildung von Erlenmeyerscher Isosäure bei der Zersetzung von dem schön krystallisierten Brucinsalz vom Schmelzpunkt 151° vorzustellen, das anfänglich stets die Isozimtsäure L. gegeben hatte.

Es sind aber auch Umwandlungen bei den Brucinsalzen selbst beobachtet worden.

So fand früher Allen, daß die beiden verschiedenen bei der Salzbildung mit Brucin aus der Allozimtsäure erhaltenen Salze bei der Krystallisation aus 50°/₀ Alkohol unter Aufnahme von einem Molekül Wasser in ein bei 76° schmelzendes, sehr schön krystallisiertes Brucinsalz übergehen, das aus Substanzmangel damals nicht näher untersucht werden konnte.

Neuerdings stießen wir anscheinend auf das nämliche Salz, als eine alte Probe des Salzes vom Schmelzpunkt 151° aus Alkohol umkrystallisiert wurde. Das gelöste Salz schied sich nicht mehr unverändert ab, blieb vielmehr nach dem Verdunsten des Alkohols als dicker Sirup zurück. Das Salz, das hierbei offenbar Wasser aufgenommen hat, schied sich nach erneuter Lösung aus Alkohol in schönen, ganz anders ausgebildeten Krystallen vom Schmelzpunkt 70 bis 75° ab.

Bei der Abscheidung der Säure aus diesem Salze erhielten wir prächtig krystallisierende Isosäure (E)., die von Herrn Dr. Fock krystallographisch identifiziert wurde. Von diesen Krystallen befinden sich heute, nach mehr als 4 Jahren, noch einige fast vollständig unverändert in meinem Besitz.

Wahrscheinlich liegt hier das aus Benzol in amorphem Zustand erhaltene Brucinsalz der Isosäure E. vor, das nach Aufnahme von einem Molekül Krystallwasser in guten Krystallen zu erhalten ist.

Die Krystallwasserbestimmung in dem von Allen früher beobachteten Salze hatte ergeben:

Berechnet für $C_9H_8O_2$,	$C_{23}H_{26}N_2O_4 + H_2O$	Gef.
H_2O	11,74	11,13.

Zum Schluß sei noch ein sehr wichtiges Resultat mitgeteilt, das wir bei einer erneuten, nach der Vorschrift von Erlenmeyer sen. vorgenommenen Reduktion von einer aus synthetischer Zimtsäure hergestellten gut krystallisierten α-Bromallozimtsäure erhielten. Der Versuch war hauptsächlich deshalb angestellt worden, um zu erfahren, ob die speziellen Eigenschaften der synthetischen Zimtsäure beim Durchgang durch die Zwischenprodukte Dibromid-, α-Bromallozimtsäure, Zimtsäure sich erhielten. Der Versuch lehrte, daß die wiedergewonnene Zimtsäure die Eigenschaften der ursprünglich verwendeten synthetischen Zimtsäure noch besaß.

Bei der Verarbeitung der bei der Reduktion gebildeten labilen Zimtsäuren wurde bei diesem Versuche außer Allozimtsäure eine in Petroläther leichter lösliche Fraktion von dem Krystallhabitus und dem Schmelzpunkt 59° der Isozimtsäure L. neben wenigen anders aussehenden Krystallen erhalten.

Die Untersuchung des Herrn Dr. Fock ergab, daß es sich hier um ein Gemisch der Liebermannschen Isozimtsäure und der schon früher beobachteten triklinen Säure handelt, deren Messung folgendes Resultat ergab:

Trikline Zimtsäure.

Triklin:

$$a : b : c = 0,4768 : 1 : 0,3834$$

$\alpha = 82^\circ\ 30'$	$A = 82^\circ\ 40'$
$\beta = 92^\circ\ 39'$	$B = 92^\circ\ 6'$
$\gamma = 94^\circ\ 21^1/_2{}'$	$C = 94^\circ\ 3'$.

Beobachtete Formen:

$b = (010)$, $a = (100)$, $c = (001)$, $m = (110)$,
$n = (1\bar{1}0)$, $q = (0\bar{1}1)$, $s = (101)$.

Die farblosen Krystalle sind meist tafelförmig nach $b = (010)$, bis zu 3 mm lang bzw. breit und $^1/_2$ mm dick; einige Individuen zeigen auch

einen mehr prismatischen Habitus, und zwar teils nach der Vertikalachse, teils nach der Achse *a*. Von den angegebenen Formen treten die Pinakoide *a* (100) und *c* (001) weit seltener auf als die Prismen *m* (110), *n* ($1\bar{1}0$) bzw. *q* (011); gleichzeitig wurden die Flächen nur in einzelnen Fällen beobachtet. Die Form *s* (101) ist teils von geringerer, teils von größerer Ausdehnung, und fehlt vielfach auch ganz.

	Beobachtet	Berechnet
$a:b$ = (100) : (010) =	85° 57′	—
$a:c$ = (100) : (001) =	87° 54′	—
$b:c$ = ($0\bar{1}0$) : (001) =	82° 40′	—
$b:n$ = ($0\bar{1}0$) : ($1\bar{1}0$) =	67° 40′	—
$b:q$ = ($0\bar{1}0$) : ($0\bar{1}1$) =	62° 43′	—
$b:m$ = ($0\bar{1}0$) : (110) =	61° 11′	61° 5′
$n:m$ = ($1\bar{1}0$) : (110) =	51° 9′	51° 15′
$c:m$ = (001) : (110) =	91° 35′	91° 14½′
$c:n$ = (001) : ($1\bar{1}0$) =	84° 39′	84° 47′
$q:a$ = ($0\bar{1}1$) : (100) =	90° 20′	90° 29′
$q:n$ = ($0\bar{1}1$) : ($1\bar{1}0$) =	78° 1′	77° 45′
$q:m$ = ($0\bar{1}1$) : ($\bar{1}10$) =	—	79° 18′
$b:s$ = ($0\bar{1}0$) : (101) =	86° 22′	86° 52′
$a:s$ = (100) : (101) =	50° 36′	50° 5′
$n:s$ = ($1\bar{1}0$) : (101) =	51° 58′	51° 44′
$c:s$ = (001) : (101) =	37° 11′	37° 49′
$q:s$ = ($0\bar{1}1$) : (101) =	—	43° 23′

Spaltbarkeit nicht beobachtet.

Auslöschungsrichtung des Lichtes auf *b* (010) ca. 15° gegen die Vertikalachse im spitzen Winkel *β* geneigt.

Nach dieser Messung ist es natürlich unmöglich, an der selbständigen Existenz einer weiteren triklinen Zimtsäure, deren Entstehungsbedingungen noch nicht bekannt sind, zu zweifeln.

Die Bildung der Liebermannschen Isozimtsäure bei der Reduktion der *α*-Bromallozimtsäure beweist aber, daß die Isosäure L. keine Komponente der Allozimtsäure ist, wie zuerst vermutet wurde. Bei der vorher beschriebenen Darstellung aus der Allosäure kann sie aus dieser Säure nur durch Umwandlung entstanden sein.

Durch die vorherigen Untersuchungen war ein solcher Zusammenhang noch nicht bekannt geworden.

Faßt man die Ergebnisse unserer neueren Versuche kurz zusammen, so ergibt sich:

A. Bezüglich der Isozimtsäure (E.) und ihrem Verhältnis zur Allozimtsäure:

1. Die Erlenmeyersche Isosäure existiert und besitzt die von ihrem Entdecker beschriebenen Eigenschaften: Löslichkeit, Schmelzpunkt und Krystallform.

2. Sie zeigt die von Erlenmeyer festgestellte Umwandlungsfähigkeit in Allozimtsäure.

3. Sie liefert bei der Salzbildung mit Anilin das von Liebermann entdeckte Anilinsalz der Allozimtsäure, aus dem Liebermann seit Jahren ausschließlich Allozimtsäure gewonnen hat.

4. Die Allozimtsäure läßt sich bei Anwendung kleiner Mengen durch alkoholische Bromzinklösung entsprechend der Angaben Erlenmeyers in die Isosäure (E.) verwandeln.

5. Auch durch Stehenlassen mit verdünnter Schwefelsäure geht die Allozimtsäure in Isozimtsäure (E.) über, wodurch es verständlich wird, daß wir einigemal abweichend von Liebermanns Erfahrungen bei Zersetzung des Anilinsalzes Isosäure (E.) erhielten.

B. Bezüglich der Liebermannschen Isosäure und ihrem Verhältnis zur Allozimtsäure und der Isosäure (E.):

1. Auch die früher nur aus natürlicher Quelle von Liebermann erhaltene Isozimtsäure existiert, sie besitzt den Angaben ihres Entdeckers entsprechend sehr viel größere Löslichkeit in niedrig siedendem Petroläther und schmilzt bei 58 bis 59°, d. h. etwa 1° höher, als Liebermann angegeben hat.

An den von uns neu dargestellten, gut ausgebildeten Krystallen konnten Söllner und später Fock den einwandfreien Beweis für die Verschiedenheit dieser Säuren von der Allozimtsäure und für die Identität mit der zuerst von Fock gemessenen natürlichen Isosäure L. erbringen.

2. Auch die von Liebermann beobachtete spontane Umwandlung dieser Säure in Allozimtsäure konnten wir bestätigen.

3. Aus der späterhin festgestellten Bildung der Isosäure (L.) bei der Reduktion der α-Bromallozimtsäure ergibt sich, daß die Isosäure (L.) eine selbständige Modifikation und nicht, wie nach der Arbeitshypothese zu vermuten war, eine Komponente der Allozimtsäure ist.

4. Die Isosäure (L.) kann demnach jetzt nicht nur aus natürlicher Quelle, sondern auch künstlich:

a) bei der Salzbildung der Allozimtsäure mit Brucin, sowie

b) durch Reduktion der α-Bromallozimtsäure erhalten werden.

5. Die Bildung von zwei in Löslichkeit, Schmelzpunkt, Krystallisations- und Drehungsvermögen verschiedenen Salzen bei der Einwirkung von Brucin auf Allozimtsäure in alkoholischer Lösung kann (wegen 3.) trotz der äußeren Ähnlichkeit der Erscheinungen mit denen, wie sie bei der Trennung racemischer Säuren mit aktiven Basen beobachtet werden, nicht auf eine stattgehabte Trennung der Allozimtsäure zurückgeführt werden.

Da ich die Versuche so häufig mit gleichem Resultat wiederholt habe, daß ich überzeugt bin, auch heute bei erneuter Wiederholung unter den nötigen Kautelen zu den beschriebenen Resultaten zu gelangen, so muß ich die Möglichkeit, daß sich die Allosäure erst beim Freimachen der Säure in die Isosäure (L.) umwandelt, von der Hand weisen und nehme an, daß die Umwandlung von Allo- in Isosäure bei der Brucinsalzbildung stattfindet.

Die Bildung zweier Salze, aus denen bei der Zersetzung Isosäure (L.) entsteht, und zwar aus dem einen Salz eine hemiedrische, aus dem anderen eine holoedrische, kann dann entweder auf eine sekundär erfolgte Trennung der zuerst durch Umwandlung gebildeten Isosäure (L.) zurückgeführt werden, man kann sich aber auch vorstellen, daß die Allosäure bei der Salzbildung mit Brucin nicht nur in Isosäure (L.), sondern noch in andere labile Modifikationen, die Isosäure (E.) und die trikline Säure, umwandelbar ist, die dann die Bildung des zweiten Salzes veranlassen können.

Daß das schön krystallisierte Brucinsalz vom Schmelzpunkt 151° der Isosäure (L.) entspricht, davon bin ich überzeugt; bei der Zersetzung des amorphen Salzes könnte die holoedrische Isosäure (L.) allerdings auch sekundär aus primär gebildeter Isosäure (E.) entstanden sein.

Die Frage, wann Trennung und wann Umwandlung vorliegt, läßt sich auf dem Gebiete der labilen Isomeren in einzelnen Fällen überhaupt nicht definitiv entscheiden.

6. Die Umwandlungsfähigkeit des Brucinsalzes sowie der Säure beim Freimachen ergibt sich aus den zuletzt angeführten Versuchen.

7. Das für die Beurteilung der hier vorliegenden Isomerieverhältnisse wichtigste Ergebnis ist die Tatsache, daß es zum wenigsten zwei, wahrscheinlich aber drei gleichzusammengesetzte Brucinsalze von verschiedener Löslichkeit, Krystallisations- und Drehungsvermögen gibt:

a) das Brucinsalz der Isosäure (E.);

b) das Brucinsalz der Isosäure (L.);

c) das amorphe, holoedrische Isosäure (L.) liefernde Brucinsalz.

Läge bei den Säuren Trimorphie vor, so daß in der Lösung der Unterschied verschwände, so könnte es keine verschiedenen, verschieden stark drehenden isomeren Brucinsalze geben.

Durch krystallographische Messung sind bisher die folgenden labilen Zimtsäuren der Isoreihe festgelegt:

1. Isozimtsäure Erlenmeyer;
2. „ Liebermann, rechts hemiedrisch,
3. „ „ holoedrisch;
4. Allozimtsäure, hemiedrisch,
5. „ holoedrisch;
6. Trikline Zimtsäure.

Besprechung der neueren Untersuchungen der labilen Zimtsäuren der Isoreihe von Biilmann und Liebermann.

Da wir inzwischen auch ähnliche Isomerieerscheinungen bei der gewöhnlichen Zimtsäure aufgefunden hatten und vermuteten, daß sich diese Isomeren infolge größerer Stabilität würden leichter bearbeiten lassen, so hatten wir die Bearbeitung der allzu labilen Zimtsäuren der Isoreihe vorläufig unterbrochen, mit der Absicht, später, nach der Erforschung der Isomerieverhältnisse bei den Zimtsäuren, auf die labilen Zimtsäuren wieder zurückzukommen.

Als die ersten Ergebnisse der Untersuchung über die isomeren Säuren der Zimtsäurereihe für den Druck zusammengestellt waren, erschien die erste Abhandlung von Biilmann[1]), die bald weitere Untersuchungen von Liebermann[2]) und

[1]) Biilmann, 1. bis 3. Abh., Ber. d. Deutsch. chem. Ges 42, 182; 42, 1443; 43, 568.

[2]) Liebermann, 1. bis 3. Abh., Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1027; 42, 4659; 43, 411.

Biilmann im Gefolge hatte. Um dem Leser ein vollständiges Bild von dem dermaligen Stand der Frage zu geben, ist es notwendig, die für die Beurteilung der Isomerieverhältnisse wichtigsten Punkte zu besprechen.

Nachdem uns die Wiedergewinnung der angezweifelten Isozimtsäuren von Erlenmeyer und Liebermann gelungen war, konnte es sich bei den neueren Untersuchungen von Biilmann und Liebermann nicht mehr um die Existenzfrage der labilen Säuren handeln, sondern die erneute Bearbeitung konnte nur weiteres Beobachtungsmaterial bezüglich der Entstehungs-, Existenz- und Umwandlungsbedingungen liefern.

1. Über die bisher bekannten Tatsachen hinausgehend, hat Biilmann gefunden, daß die Allozimtsäure nicht nur, wie Erlenmeyer sen., sowie Erlenmeyer jun. und Allen festgestellt haben, durch die Einwirkung von alkoholischer Bromzinklösung oder verdünnter Schwefelsäure in der Kälte in die Isosäure (E.) übergeht, sondern daß sich dieser Übergang der Allozimtsäure auch durch Wärmezufuhr bis zum Schmelzen bewerkstelligen läßt.

Biilmanns Angabe hierüber lautet (1. Abhandl., S. 184): „Man nimmt etwas Allozimtsäure und bringt sie in ein Probierröhrchen. Dieses wird — ganz wie bei bakteriologischen Kulturversuchen — mit einem Wattestopfen verschlossen und dann in einem Dampftrockenschrank einige Minuten stehen gelassen; die Säure schmilzt dann. Beim Kühlen mit Eis oder in Kältegemisch erstarrt die Säure sofort. Sie hat jetzt den Schmelzpunkt 41° und muß somit Erlenmeyer sen. Säure entsprechen."

Die außerordentlich sorgfältige und eingehende Nachprüfung der Untersuchungen Biilmanns durch Liebermann ergibt, daß die Angaben Biilmanns bezüglich dieser Umwandlung nicht zureichend sind.

Nach Liebermann (1. Abh., S. 1029) genügt es durchaus nicht, die Allozimtsäure nur zum Schmelzen zu bringen, vielmehr muß, was Biilmann nicht beobachtet hatte, die Schmelze je nach der angewandten Menge Allozimtsäure verschieden lange auf 105° erhitzt werden, um die Umwandlung in die Isosäure (E.) zu bewirken. Bei Mengen von 0,1 bis 0,3 g ist bereits eine Erhitzungsdauer von 20 bis 30 Minuten nötig. Es liegt auf der Hand, daß die ursprüngliche Schmelze der

Allozimtsäure nicht identisch sein kann mit der durch längeres Erhitzen erhaltenen Schmelze der Isosäure (Erlenmeyer). Eine Dimorphie ist somit ausgeschlossen.

Wie Liebermann feststellte (1. Abh., S. 1036) ist vielmehr „die 42°-Säure von unter 0 bis 120°, die Allo- bis 80° und die Isosäure bis mindestens 70° selbständig existenzfähig", d. h. also auch in der Schmelze.

2. Obwohl Erlenmeyer sen. und Erlenmeyer jun. und Allen die Isosäure (E.) stets aus Petroläther umkrystallisiert haben und niemals dabei eine Umwandlung in die Isosäure (L.) beobachtet haben, schreibt Biilmann (1. Abh., S. 187): „Eigentümlich verhält sich die Isosäure (E.) gegen Petroläther. Aus diesem Lösungsmittel konnte sie nicht erhalten werden: eine übersättigte Lösung, die mit Isosäure, Schmelzpunkt 41°, geimpft wurde, gab nur Isosäure mit dem Schmelzpunkt 58°." Aus dieser Beobachtung Biilmanns ergibt sich, daß er seine Krystallisationsversuche mit 42° Säure unter anderen Bedingungen, als wie sie von Erlenmeyer angegeben worden sind, vorgenommen hat.

Diese Bildung der Isosäure 58° durch spontane Umwandlung aus 42°-Säure beweist den genetischen Zusammenhang der beiden Säuren. Später hat Biilmann (2. Abh., S. 1449) seine Behauptung, 42°-Säure ließe sich nicht aus Petroläther krystallisieren, selbst richtig gestellt:

„Diese Beobachtungen zeigen, daß die 42°-Säure somit unter bestimmten Umständen aus Benzin krystallisieren kann, und daß sie bei Gegenwart desselben gar nicht besonders unstabil ist."

Ohne Erlenmeyer sen. zu erwähnen, bestätigt Biilmann also jetzt dessen 15 Jahre vorher gemachten Beobachtungen.

Von Wichtigkeit für diesen Punkt ist die von Liebermann (2. Abh., S. 4662) gemachte Angabe: „Die 42°-Säure läßt sich übrigens auch aus bei 60 bis 70° siedendem Ligroin umkrystallisieren. Wir haben letzteren Versuch mehrfach mit dem gleichen Erfolge wiederholt und müssen dies ausdrücklich hervorheben, weil es Biilmanns Angaben widerspricht, nach denen (2. Abh., S. 1446) beim Umkrystallisieren von 20 Minuten bei 98° überschmolzener Allosäure — das ist aber nach Biilmann 42°-Säure — aus bei 60 bis 70° siedendem Ligroin

stets 58°-Isosäure entstehen soll. Allerdings hat Biilmann dann etwas weiterhin (S. 1449) zugegeben, daß 42°-Säure „unter bestimmten Umständen“ aus Benzin krystallisieren kann.

3. Die interessanten Versuche Liebermanns 1. Abh., S. 1029, 30 und 31 beweisen einwandfrei, daß, wie auch früher Erlenmeyer sen. gefunden hat, die Isosäure E. spontan in die Allosäure zurückverwandelbar ist.

Besonders bemerkenswert ist die auf Seite 1031 1. Abh. beschriebene, durch Reiben der 42°-Säure in einer Achatschale, also rein mechanisch, bewirkte Umwandlung in Allozimtsäure, die der früher von Erlenmeyer durch Reiben geschmolzener Isosäure mit einem Platindraht hervorgebrachten Umwandlung in Allozimtsäure an die Seite zu stellen ist.

In dem gleichen Absatz bringt Liebermann auch einen neueren Beleg für die spontane Umwandlung seiner Isosäure in Allosäure und spricht sich bezüglich der spontanen Umwandlung der labilen Säuren am Schlusse der Abhandlung (Seite 1036) wie folgt aus: „Ich bin aber der Ansicht, daß die Umwandlung beider Isosäuren in die Allosäure nicht allein durch die Impfung — und da momentan —, sondern auch namentlich seitens der Isosäure 42° freiwillig durch gewisse mechanische oder chemische Anstöße nach kürzerer oder längerer Zeit erfolgen kann.“

4. Auf Seite 185 stellt Biilmann die Behauptung auf: „Die Liebermannsche Isozimtsäure wird immer erhalten, wenn eine Lösung einer der drei Säuren in siedendem Petroläther beim Erkalten freiwillig krystallisiert“, und zwar ungeachtet der früheren Angaben von Liebermann und Erlenmeyer sen., die doch stets die Allosäure ohne Umwandlung krystallisiert hatten. Die Unrichtigkeit der Behauptung, daß die Isosäure E. aus Petroläther immer die 58°-Säure gibt, ist bereits bei 2 besprochen.

Gegen die angeführte Behauptung Biilmanns wendet sich Liebermann in seiner ersten Abhandlung S. 1035 mit den Worten: „Diese Angabe schien mir sogleich deshalb nicht recht wahrscheinlich, weil ich Allosäure früher oft aus Ligroin umkrystallisiert habe. Ich kann diese Angabe Biilmanns für Allosäure aber auch nach meinen bisherigen Versuchen durchaus nicht bestätigen. Ich habe wiederholt Allosäure im Kölbchen mit sterilem Wattebausch längere Zeit mit Ligroin vom

verlangten Siedepunkt heftig gekocht und das Kölbchen geschützt über Nacht fortgestellt. Nächsten Tag fand ich dann schöne Krystalle ausgeschieden, die aber ihrem Schmelzpunkte nach Allosäure waren."

Auf diesen Einwurf Liebermanns hin sieht sich Biilmann (2. Abh., S. 1448) veranlaßt, seine frühere Behauptung richtig zu stellen:

„Prof. Liebermann hat gefunden, daß es durchaus nicht immer gelingt, die 58°-Säure zu erhalten bei Auflösung der 68°-Säure in siedendem Benzin und spontaner Krystallisation der gebildeten Lösung; vielmehr wird in den meisten Fällen die 68°-Säure wieder abgeschieden. Diese mit den Angaben darüber in meiner ersten Mitteilung im Widerspruch stehenden Beobachtung kann ich nun als richtig bestätigen."

Mit dieser Richtigstellung fällt die Einwendung, die Biilmann gegen meine Darstellung der 58°-Säure aus den beiden aus der Allozimtsäure erhaltenen Brucinsalzen gemacht hat:

„Auch Erlenmeyer jun. erhielt die Säure (58°), nach seiner Ansicht wegen einer Trennung vermittels eines Brucinsalzes, realiter aber schlechterdings wegen einer Krystallisation aus Petroläther."

als belanglos in sich zusammen.

Trotzdem ist nicht daran zu zweifeln, daß es, wenn man die Bedingungen richtig trifft, möglich ist die Allozimtsäure durch Erhitzen mit Ligroin, also durch Wärmezufuhr, in die 58°-Säure umzuwandeln. — Beim Lösen der 68°-Säure in der Kälte oder durch gelindes Erwärmen, z. B. mit der Hand, findet dagegen keine Umwandlung statt. Die Umwandlung der Allosäure in 58°-Säure durch Erhitzen mit dem Lösungsmittel entspricht vollkommen der von mir[1]) aufgefundenen Umwandlung der Storax-α-Zimtsäure in die Storax-β-Zimtsäure, die gleichfalls durch Wärmezufuhr in irgendeiner Lösung erfolgt.

5. Aus der Umwandlung der Schmelzen der drei Säuren durch Impfen mit einer der drei Modifikationen in die zu der Impfung benutzte zieht Biilmann den Schluß, daß die drei Modifikationen nicht isomer, sondern trimorph seien, ohne die früher von Liebermann und Erlenmeyer sen. festgestellten, die Trimorphin ausschließenden Tatsachen zu berücksichtigen.

Da aus den früheren und den neueren Beobachtungen Liebermanns sowohl, als aus denen von Erlenmeyer sen., Erlenmeyer jun. und Allen, Barkow und Herz, zum Teil

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 1584, 1906.

auch aus Biilmanns eigenen Beobachtungen mit Sicherheit hervorgeht, daß die Isosäure (E.) in die Isosäure (L.) und diese in die Allosäure und ferner, daß die Isosäure E. auch direkt in Allosäure überzugehen vermag, und zwar spontan, d. h. ohne Impfung, so kann die Infektionshypothese von vornherein nur eine sekundäre Bedeutung haben. Denn wenn die Umwandlung auch ohne Impfung gelingt, so liegt kein Grund vor, warum sie bei der Impfung nicht gelingen sollte, zumal, wie Erlenmeyer sen. gefunden hat, bereits der mechanische Einfluß beim Reiben mit dem Platindraht auch ohne Impfstoff genügt, den Anstoß zur freiwilligen Umlagerung zu geben.

Immerhin schien es mir nicht unmöglich, daß die Umwandlung durch Impfung beschleunigt werden könnte, bis Liebermann (1. Abh., S. 1032) den folgenden wichtigen Versuch mitteilte, der weder zugunsten einer Umwandlung durch die Impfung überhaupt, noch zugunsten einer Beschleunigung der auch sonst freiwillig erfolgenden Umwandlung spricht.

„Größere Krystalle von Isosäure 58, die mit klaren Krystallen von Allosäure gemeinsam in eine Glasstöpselflasche getan worden waren, waren erst nach 6 bis 7 Tagen porzellanartig geworden, während die Allokrystalle völlig klar blieben. Leider ist der Versuch für die Impfung nicht beweisend, da auch die benutzte und stets gegen Infektion und Licht geschützte Isosäure (58°) zu derselben Zeit porzellanartig geworden war.“

Da dieser Versuch geradezu gegen die Annahme einer Infektion und zugunsten der spontanen Umwandlung spricht, so ist es natürlich unmöglich, die von Biilmann behauptete, aber nicht bewiesene Infektionshypothese als Argument für die Trimorphie zu betrachten, man hat sich vielmehr allein an die folgenden positiven Resultate von Liebermann, Erlenmeyer sen. und jun. zu halten, die die Isomerie beweisen.

Von früheren Beobachtungen:

1. die verschiedene Reaktions- und Umwandlungsgeschwindigkeit von Allosäure einerseits und von Isosäure (L.) resp. Isosäure (E.) andererseits,

2. die Existenz von 3 in ihren Eigenschaften, wie Löslichkeit und Krystallisationsvermögen, besonders aber im Drehungsvermögen sich unterscheidenden Salzen der labilen Zimtsäure der Isoreihe von der gleichen Zusammensetzung.

Von neueren Beobachtungen Liebermanns:

3. die selbständige Existenz der drei Säuren in der Schmelze,

4. der unveränderte Durchgang der drei Säuren durch ihre Kalksalze (2. Abh., S. 4667).

Die Überführung der drei Säuren in die Kalksalze wurde unter den nötigen Kautelen von Liebermann 3mal wiederholt und bei allen 9 Versuchen gaben die Kalksalze jedesmal die angewandte Säure zurück.

Das auf S. 4669 von Liebermann gegen die Calciumsalze erhobene Bedenken, daß sie ihrer schwachsauren Reaktion wegen zum Teil hydrolysiert sein könnten, scheint mir deshalb nicht sehr schwerwiegend zu sein, weil man sonst mit dem gleichen Recht im Chlorzink und Sublimat, dem Kupfersulfat u. a. wegen ihrer sauren Reaktion freie Mineralsäure und dem alkalisch reagierendem Natriumsalz der schwachen Essigsäure die Anwesenheit von freiem Natronhydrat annehmen müßte.

5. Der beste Beweis für die Nichtidentität der Lösungen der drei Säuren, also gegen die Trimorphie, ist aber in den bisher vorliegenden Messungen der Leitfähigkeit zu finden.

Ostwald hatte früher Präparate der Isosäure Liebermanns und der Allosäure untersucht und gefunden:

für Isosäure $k = 0{,}0158$
für Allosäure $k = 0{,}0138$.

Neuerdings hat Bjerrum auf Veranlassung von Biilmann alle drei Säuren auf ihre Leitfähigkeit untersucht.

Biilmann hat die Resultate, die

für Isosäure (E.) $= 0{,}0138$
für Isosäure (L.) $= 0{,}0141$
für Allosäure $= 0{,}0142$

ergeben haben, mitgeteilt und schreibt dazu (3. Abh., S. 372):

„Die 58°-Säure ist früher von Ostwald und Bader untersucht worden, die für $k \cdot 10^6$ einen Wert von 158 fanden. Ostwald hat später die 68°-Säure untersucht und fand dann $k \cdot 10^6 = 138$. Der Unterschied zwischen den beiden Werten ist zwar etwas größer als die gewöhnlichen Versuchsfehler, scheint aber Ostwald so lange noch keinen Unterschied zu begründen, als er die Versuche an der 58° Säure nicht nochmals persönlich kontrolliert hat."

„Auch wir können somit ohne Zweifel den Ostwald-Baderschen Wert 158, der mit den hier mitgeteilten Bestimmungen nicht im Ein-

klang ist, außer Betracht lassen. Der zuletzt gefundene Ostwaldsche Wert stimmt gut mit den hier mitgeteilten Resultaten."

Da Biilmann weder den „zuletzt gefundenen Wert" von Ostwald noch auch die Literatur angibt, so scheint es, daß ihm der Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 36, 181 mitgeteilte „zuletzt gefundene Ostwaldsche Wert":

Allozimtsäure 162,

der mit den Werten von Bjerrum 138 bis 142 gut übereinstimmen soll, unbekannt geblieben ist.

Die Tatsache aber, daß bei den Lösungen der drei labilen Zimtsäuren der Isoreihe von 138 bis 162 wechselnde Leitfähigkeitswerte gefunden werden (der maximale Fehler beträgt nach Ostwald nur 4), beweist, daß die drei Säuren keineswegs, wie die Trimorphiehypothese verlangen muß, in Lösung identisch sind.

Die hier zusammengestellten 5 Punkte sprechen einwandfrei gegen Trimorphie und für die chemische Verschiedenheit der labilen Zimtsäuren der Isoreihe.

Die Tatsache, daß in geschlossenen Gefäßen klare Isosäure allein ebenso rasch in Allosäure übergeht, wie ein Gemisch derselben Isosäure mit Allosäure, zeigt, daß die „Infektionsgefahr" nicht existiert. Ich halte es daher für an der Zeit, die der Trimorphie verdächtig gewesenen labilen Zimtsäuren der Isoreihe nicht länger grundlos in der für solche Fälle von Biilmann[1]) empfohlenen „Quarantäne" zurückzuhalten, sondern sie als labile Isomere aus dieser zu entlassen.

Liebermann hat sich nicht nur durch die Richtigstellung der unzulänglichen Angaben Biilmanns bezüglich der Umwandlungen der labilen Zimtsäuren, sondern auch durch die Neuauffindung der folgenden, für die Beurteilung der Isomerie so wichtigen Umwandlungsbedingungen ein großer Verdienst erworben.

Während Erlenmeyer sen. gefunden hatte, daß Allozimtsäure durch Stehenlassen mit alkoholischer Bromzinklösung in Isosäure (E.) übergeht und Erlenmeyer jun. und Allen den gleichen Vorgang durch kalte verdünnte Schwefelsäure bewirkten, stellte neuerdings Lieberman fest, daß die

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 44, 832, 1911.

Umwandlung in dem gleichen Sinn erfolgt durch Erhitzen mit verdünnter Salzsäure, ja sogar schon beim Erhitzen mit Wasser und endlich beim Lösen der Allosäure in überschüssiger Natronlauge und darauf folgendes Ansäuern.

Schluß.

Aus der voranstehenden Zusammenstellung der wichtigsten, bei der Untersuchung der labilen Zimtsäuren der Isoreihe erhaltenen Resultate ergibt sich, daß hier tatsächlich, weder durch die Struktur- noch durch die Stereochemie erklärbare labile Isomere vorliegen, deren Auftreten nach den theoretischen Betrachtungen in der Einleitung zu erwarten war und deren Verschiedenheit, dem bewährten Erklärungsprinzip für Isomerie entsprechend, auf eine bisher allerdings noch nicht bekannte Lageverschiedenheit irgendwelcher Teile des Moleküls zurückgeführt werden muß.

Die Labilität dieser Säuren ist zwar nicht so groß, daß die Verschiedenheit der Modifikationen unter allen Umständen in Lösung oder im geschmolzenen Zustand verschwindet, wie festgestellt, gelingt es vielmehr mit einiger Vorsicht alle drei Modifikationen aus Ligroin einmal und öfter unverändert umzukrystallisieren, ebenso existieren innerhalb der von Liebermann festgestellten Temperaturen die drei Modifikationen selbständig, d. h. ohne Umwandlung, in der Schmelze.

Unter gewissen Bedingungen, die man jedoch experimentell noch nicht völlig in der Hand hat, ist die Labilität freilich recht groß, so daß es leicht verständlich wird, daß Stobbe[1]) in einem Falle aus den drei Säuren zufällig Lösungen erhielt, die bei seiner Untersuchungsmethode Unterschiede nicht erkennen ließen.

Von größter Wichtigkeit für die Beurteilung der hier vorliegenden Isomerieverhältnisse ist die Tatsache, daß Allosäure durch Wärmezufuhr, sei es in der Schmelze, sei es in Lösung, schließlich in die labilste Säure, die Isosäure (E.), übergeht.

Der Umstand, daß, wie Liebermann bewiesen hat, die Umwandlung der Schmelze der Allosäure in die Schmelze der Isosäure (E.) abhängig ist von der angewandten Menge Allo-

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, 506, 1911.

säure und der Zeitdauer, lehrt, daß diese Umwandlung von einer Aufnahme von Energie begleitet sein muß[1]. Wie alle isomeren Moleküle sich nicht nur durch die verschiedene Lagerung ihrer Atome, sondern auch, abhängig von der Lagerung, durch Verschiedenheit ihres Energieinhalts ausgezeichnet sind, so führen also die Umwandlungsversuche auch bei der labilen Zimtsäure der Isoreihe zur Annahme eines verschiedenen Energieinhalts.

Nach den gemachten Erfahrungen hat man die Isosäure (E.) als die labilste und energiereichste, die Allosäure als die stabilste an Energie ärmste und ihrem Energieinhalt zwischen diesen beiden stehend die Isosäure (L.) zu betrachten.

Da sich die Allosäure auch in der Kälte durch Bromzink oder Schwefelsäure in die Isosäure (E.) umwandeln läßt, so muß man schließen, daß diese Agenzien imstande sind, an das Molekül der Allosäure Energie abzugeben.

Gelingt es, äußere Anstöße, die die Umwandlung in die stabile Lage bewirken, abzuhalten, so läßt sich nach meinen Beobachtungen die energiereichste Modifikation, die Isosäure E., durch 4 Jahre, nach den Befunden von Giesel die Isosäure L. 10 Jahre in dem labilen Gleichgewichtszustand unverändert erhalten.

Unter anderen Bedingungen, die man noch nicht sicher zu beurteilen vermag, kann man durch den allmählich auf 58° sodann auf 68° steigernden Schmelzpunkt feststellen, daß die energiereichste Modifikation, unter vorübergehender Bildung der energieärmeren Isosäure (L.) als Zwischenprodukt, ganz allmählich in die energieärmste Form, die Allosäure, übergeht. Endlich aber beobachtet man auch sehr oft einen plötzlichen Übergang der energiereichsten Isosäure (E.) in die Allozimtsäure.

Diese recht merkwürdigen Erscheinungen lassen sich am besten durch den folgenden Vergleich mit den bei einem sowohl im stabilen als im labilen Gleichgewichtszustand aufstellbaren Körper, z. B. einem langgestreckten vierseitigen Prisma, zu beobachtenden Erscheinungen verständlich machen. Legt man das Prisma auf eine der Prismenflächen, so befindet es sich im stabilen Gleichgewicht. Will man das Prisma nun in

[1] Vgl. Stoermer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 4869, 1909; Klinger, ebenda 11, 1027, 1878.

den labilen Gleichgewichtszustand überführen, so muß man es unter Aufwand von Arbeit aufrichten, d. h. auf die Basis stellen. Die bei der Aufstellung verbrauchte Arbeit geht als potentielle Energie in den labilen Gleichgewichtszustand mit über.

In diesem labilen Gleichgewichtszustand genügt natürlich ein geringer Anstoß, um das Prisma zum Umfallen zu bringen, d. h. um es aus diesen Zustand unter Verlust der aufgenommenen potentiellen Energie in den stabilen Gleichgewichtszustand überzuführen.

War der Anstoß nicht groß genug, um das Prisma sofort zu Fall zu bringen, so wird er es doch in Oszillationen um die labile Gleichgewichtslage versetzen. Ein um die labile Gleichgewichtslage oszillierendes Prisma wird natürlich durch einen noch geringeren erneuten Anstoß zum Umfallen, d. h. zum Übergang in die stabile Gleichgewichtslage genötigt werden können.

Durch Vergleich mit den hier geschilderten Vorgängen dürfte es nicht schwer sein, die bei der Umwandlung der Allosäure in Isosäure E. und ihrer Rückverwandlung beobachteten Erscheinungen zu verstehen.

Durch Zufuhr von Wärme findet im Molekül der Allosäure der Übergang von der stabilen Lagerung in die labile Lagerung der Isosäure (E.) statt unter gleichzeitiger Aufnahme von potentieller Energie. Trifft man die Bedingungen so, daß in der labilen Gleichgewichtslage die Teile des Moleküls in der neuen Anordnung zur Ruhe kommen können, so muß es gelingen, das labile Molekül in der neuen labilen Lage längere Zeit zu erhalten. Zweckmäßig dürfte dieses Ziel durch rasche Abkühlung nach der Umwandlung, d. h. durch Wegnahme der für die Umwandlung nicht mehr nötigen Wärme erreicht werden können.

Andernfalls werden die im labilen Molekül vorhandenen Oszillationen dieses gegen jeden weiteren Anstoß besonders empfindlich machen und den so oft beobachteten plötzlichen Rückgang in die stabilste Modifikation unter Verlust der ganzen potentiellen Energie veranlassen.

Die Wirkung der Wärme ist demnach eine zweifache. Zunächst liefert sie die für den Übergang aus der stabilen, der Allozimtsäure entsprechenden Gleichgewichtslage in die labile Gleichgewichtslage der Isosäure (E.) nötige Energie. Ist die

neue labile Gleichgewichtslage unter Aufnahme von der entsprechenden Menge potentieller Energie erreicht, so wird jegliche weiter zugeführte Wärme verhindern, daß das Molekül in der neuen labilen Lagerung zur Ruhe kommt, wird vielmehr bewirken, daß die Teile des Moleküls um die labile Gleichgewichtslage herum größere oder geringere Oszillationen ausführen. Geht die Größe der Amplitude solcher Oszillationen über ein bestimmtes Maß hinaus, so muß der Rückgang des Moleküls in die stabile Gleichgewichtslage die notwendige Folge sein.

Diese zweifache Wirkung der Wärme erklärt ungezwungen die von allen Forschern bei den Umwandlungen festgestellte Launenhaftigkeit, mit der man wohl auch fernerhin zu kämpfen haben wird, da man die Wärmezufuhr, die für die Umwandlung nötig ist, nicht dosieren kann.

Außer der überschüssig zugeführten Wärme kommen nach den Erfahrungen von Erlenmeyer und Liebermann auch die rein mechanische Wirkung durch Reiben und die Belichtung als Ursachen, die das labile Molekül in Oszillationen versetzt, die schließlich zur Rückverwandlung in die stabile Modifikation führen müssen, in Betracht.

Die Fähigkeit aber von organischen Molekülen, sei es durch Erwärmen, sei es durch Einwirkung gewisser chemischer Substanzen, unter Aufnahme von Energie in labilere, leichter lösliche Modifikationen der gleichen Struktur überzugehen, die dann unter oft sehr geringen Veränderungen der Bedingungen unter Abgabe der aufgenommenen Energie wieder in die ursprünglichen Modifikationen zurückverwandelt werden, scheint mir für die Biochemie von allergrößter Bedeutung zu sein.

Der lebende Organismus wird durch diese Fähigkeit in den Stand gesetzt, mit Hilfe solcher Moleküle Energie aufzuspeichern und diese später nach Bedarf an der gleichen oder nach dem Transport an einer anderen Stelle unter gleichzeitiger Rückverwandlung in die energieärmere Modifikation zu irgendwelchen Zwecken zu verwenden.

Die Untersuchungen sollen von dem hier skizzierten Standpunkt aus, der vielleicht auch bei der Erklärung der Enzymwirkungen in Betracht kommt, weiter fortgesetzt werden.

Berichtigung, Katalase betreffend.

Von

Oscar Loew.

Auf S. 33 des 33. Bandes dieser Zeitschrift teilt W. Fabre (Charkow) mit, daß Senter zuerst die Wirkung von Säuren, Alkalien und Salzen auf die Katalase untersucht habe.

Dazu möchte ich bemerken, daß dieses von mir schon im Jahre 1898 geschehen ist; ebenso rührt die Beobachtung über die hemmende Wirkung der Nitrate nicht von Senter, sondern von mir her, wie aus meiner vom Agricultur-Departement in Washington veröffentlichten Schrift[1]) zu ersehen ist. Ebenso ist von mir der Nachweis des Vorkommens der Katalase in der gesamten Organismenwelt geliefert worden[2]). Wahrscheinlich ist meine Schrift Herrn Fabre nicht zugänglich gewesen.

---

[1]) O. Loew, Catalase, a new enzyme of general occurrence, U. S. Department of Agriculture, Washington 1900. — Ein kurzer Bericht erschien schon vorher in „Science“; ein kurzes Referat enthält der Jahresber. f. Tierchem. 1900, 968.

[2]) In einem Werke heißt es bloß, ich hätte Katalase im Tabaksblatt nachgewiesen!

Über die isomeren Säuren der Zimtsäurereihe[1]).

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem bei Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juni 1911.)

Nach Feststellung der Verschiedenheit der synthetischen und der natürlichen aus der Pflanze gewonnenen Storaxzimtsäure wurde, wie bereits erwähnt, das Studium der labilen Zimtsäuren der Isoreihe unterbrochen, um zunächst die Isomerieverhältnisse in der Zimtsäurereihe klarzustellen.

Die Versuche, die synthetische Zimtsäure mit Hilfe der Brucinsalze zu trennen, führte nicht zu dem gewünschten Resultat, da die Brucinsalze der in der synthetischen Zimtsäure vereinigten Säuren, wie spätere Versuche lehrten, sich in ihrer Löslichkeit nicht genügend unterschieden.

Dagegen gelang es nicht nur durch fraktionierte Destillation des synthetischen Zimtsäureesters, sondern auch durch fraktionierte Fällung der synthetischen Zimtsäure und durch die partielle Anlagerung von unterchloriger Säure an synthetische Zimtsäure den Nachweis zu liefern, daß sie ein einheitlich krystallisierendes Gemisch von einer mit der natürlichen Storaxzimtsäure identischen Säure und einer anderen der Analyse nach gleich zusammengesetzten Säure, die ich Heterozimtsäure genannt habe, ist, die in ihren Eigenschaften von allen bisher untersuchten Zimtsäuren wesentlich abweicht.

---

[1]) Frühere Mitteilungen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 3499, 3891, 1905; 39, 285, 1570, 1906; 40, 653, 1907; 42, 502, 513, 521, 2649, 2655, 1909; 43, 955, 1076, 1910; Liebigs Annalen 372, 247, 1910.

Ferner wurde der Nachweis geliefert, daß die schön krystallisierte Storaxzimtsäure sowohl beim Erhitzen ihrer Lösungen als auch beim Erhitzen über den Schmelzpunkt in eine neue als Storax-β-Zimtsäure bezeichnete Modifikation übergeht.

Die Bildungsweise dieser Modifikation aus der gewöhnlichen, Storax-α-Zimtsäure genannten Säure stimmt vollständig mit der Bildung der labilen und energiereicheren Isozimtsäure (E.) aus der Allozimtsäure überein. Da sich die Storax-β-Zimtsäure, ebenso wie die Isozimtsäure (E.) in Allosäure, leicht spontan in Storax-α-Zimtsäure zurückverwandelt und da sie, wie Bube[1]) nachgewiesen hat, eine größere Leitfähigkeit besitzt (α-Säure Max.-Wert K 0,00371, β-Säure 0,00425), so darf man annehmen, daß Storax α- und β-Säure in dem gleichen Verhältnis zueinander stehen wie die Isozimtsäure (E.) zur Allozimtsäure, daß also die Storax-β-Säure die labile, energiereichere, isomere Modifikation vorstellt.

Auch die aus der synthetischen Zimtsäure abgeschiedene Heterozimtsäure vermag in einer glänzenden α- und einer kreidigen β-Modifikation zu existieren, von denen die α-Modifikation ebenfalls durch Erhitzen ihrer wässerigen Lösung in die energiereichere β-Modifikation überführbar ist.

Da sich Storaxzimtsäure in ihrer α-Form von der Heterozimtsäure in ihrer β-Form am augenfälligsten unterscheidet, so wurde bei der Untersuchung die Storaxzimtsäure stets in ihrer α-Form, die Heterozimtsäure in ihrer β-Form identifiziert.

Aus den auf verschiedene Weise gelungenen Umwandlungen von Storaxzimtsäure in Heterozimtsäure und aus der Bestimmung der Leitfähigkeit und der Trennung nach der verschiedenen Säurestärke ist zu schließen, daß es sich auch hier um isomere, ineinander verwandelbare Isomere von verschiedenem Energieinhalt handelt, die jedoch viel stabiler sind als die bisher beschriebenen Isomeren. Die Heterozimtsäure hat als die energieärmere Säure zu gelten.

Von größter Wichtigkeit ist die Entdeckung gewesen, daß die Verschiedenheit von Storax- und Heterozimtsäure auf den mit der Acrylsäuregruppe verbundenen aromatischen Rest

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 2669, 1909.

zurückgeführt werden muß. Es gelang sowohl den der Storaxzimtsäure als den der Heterozimtsäure entsprechenden Benzaldehyd herzustellen und jeden für sich in die zugehörige Zimtsäure überzuführen.

Nachdem ich bei meinem Vortrag in der Sitzung der Deutschen chemischen Gesellschaft vom 28. Juni 1909 alle für das Verständnis der Untersuchung der synthetischen, der Storax- und der Heterozimtsäure wichtigen Präparate vorgezeigt habe, kann niemand mehr an der Realität der auf diesem Gebiet zu beobachtenden Erscheinungen zweifeln.

Anders liegt aber der Fall bezüglich der aus den Erscheinungen zu ziehenden Schlüsse, über die im Hinblick auf die einschneidende Bedeutung für die Theorie der aromatischen Verbindungen eine Meinungsverschiedenheit noch verständlich erscheint.

So wurde der Einwurf gemacht, die Verschiedenheit von Heterozimtsäure und Storaxzimtsäure könne durch eine in der Heterozimtsäure vorhandene Verunreinigung bewirkt sein.

Dieser Einwurf, der sich natürlich gegen jegliche Isomerie von vornherein ins Feld führen läßt, kann unter Umständen kaum entkräftet werden, besonders wenn man annimmt, daß die hypothetische Verunreinigung so klein ist, daß sie mit Hilfe unserer Methoden nicht mehr nachweisbar ist.

Zur Entkräftigung dieser Verunreinigungshypothese habe ich für den Leser zunächst nochmals die früher und die neuerdings festgestellten Unterschiede von Storax- und synthetischer Zimtsäure einerseits und von Storax- und Heterozimtsäure andererseits zusammengestellt und sodann zwei Wege beschrieben, auf denen es möglich ist, die Strukturgleichheit von Storax- und Heterozimtsäure einwandfrei zu beweisen.

1. Über die Unterschiede von Storaxzimtsäure und der aus chlorfreiem synthetischem Benzaldehyd oder aus dem entblausäuerten natürlichen Benzaldehyd der Firma Schimmel nach der Perkinschen Vorschrift in Glasgefäßen dargestellten synthetischen Zimtsäure.

1. Geringe Verschiedenheit in der Löslichkeit in Wasser, Äther und anderen Lösungsmitteln. Die synthetische Zimtsäure ist löslicher als die Storaxzimtsäure.

2. Geringer Unterschied im Schmelzpunkt. An demselben Thermometer erhitzt, schmilzt die synthetische Säure etwa 1° tiefer.

3. Vollständige Verschiedenheit in der Art der Ausscheidung aus Äther.

Die Storaxzimtsäure bildet beim Verdunsten ihrer ätherischen Lösung zentimetergroße, dicktaflige, schön ausgebildete Krystalle. Unter den gleichen Bedingungen scheidet sich die synthetische Zimtsäure in äußerst dünnen, stark verwachsenen Blättchen ab, die nur selten eine geradlinige Umgrenzungslinie erkennen lassen.

4. Verschiedenheit bei den Dibromiden und Dichloriden.

Das Dibromid der Storaxzimtsäure bildet aus Chloroform ausgeschieden kurze, dicke, schön ausgebildete Krystalle von geringerer Löslichkeit als die größeren, aber weniger dick ausgebildeten Krystalle des synthetischen Dibromids.

Herr Dr. Richarz[1]) hatte die Freundlichkeit, meine Präparate in dem unter Leitung von Herrn Geh.-Rat Prof. Dr. Hintze in Breslau stehenden mineralogischen Institut zu messen und teilt mir darüber folgendes gütigst mit.

a) Dibromid der Storax-α-Zimtsäure.

Krystallsystem: monosymmetrisch.

Achsenverhältnis: $a:b:c = 0{,}24300:1:0{,}33670$.

Achsenschiefe: $\beta = 78^\circ\,17'$.

Beobachtete Formen: $o\,(111) - P$, $p\,(11\bar{1}) + P$, $c\,(001)\ oP$, $b\,(010) \infty P(\text{Klino}) \infty$.

Winkeltabelle:

		Beobachtet	Berechnet
$o:o$	$(111):(1\bar{1}1)$	$\times 20^\circ\,2'$	—
$p:p$	$(11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$	$\times 24^\circ\,14'$	—
$p:o$	$(11\bar{1}):(111)$	$\times 69^\circ\,50'$	—
$o:b$	$(111):(010)$	$79^\circ\,53'$	$79^\circ\,57'$
$p:b$	$(11\bar{1}):(010)$	$77^\circ\,50'$	$77^\circ\,53'$
$o:c$	$(111):(001)$	$47^\circ\,30'$	$47^\circ\,26'$
$p:c$	$(11\bar{1}):(00\bar{1})$	$62^\circ\,44'$	$62^\circ\,44'$
$p:o$	$(11\bar{1}):(1\bar{1}1)$	$74^\circ\,25'$	$74^\circ\,18'$

[1]) Vgl. Krystallographisch-optische Untersuchungen aromatischer Verbindungen, insbesondere der Zimtsäure und ihrer Halogenderivate. Inaug.-Dissertation. Breslau 1911.

Die Ebene der optischen Achsen steht senkrecht zur Symmetrieebene und für Na-Licht fast genau senkrecht zur Basis (001), *oP*. Sie weicht, nach der Figur orientiert, für Li-Licht etwa 1° nach vorn, für Tl-Licht ebensoviel nach hinten ab. Die Achsenbilder erscheinen öfters gestört.

Der scheinbare optische Achsenwinkel, in Cedernholzöl gemessen, ergab für

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
appr. 46° 21′	46° 34′	46° 58′

Die Symmetrieaxe ist die erste Mittellinie und Achse der kleinsten Elastizität, der optische Charakter ist daher positiv. Durch *b* (010) ist die gekreuzte Dispersion deutlich erkennbar.

In den Kreis der Untersuchung wurden ferner noch gezogen die Dibromide von Storaxsäure folgender Herkunft:

1. aus synthetischer Zimtsäure mit Hilfe von blausäurefreiem Kirschlorbeeröl durch fraktionierte Fällung herausgearbeitet,
2. aus Hondurasbalsam,
3. aus schwer löslicher Benzalmalonsäure.

Im Vergleich zu dem oben behandelten Storaxzimtsäurebromid fällt bei diesen Präparaten die größere Klarheit und Durchsichtigkeit auf, daher auch das Interferenzbild ziemlich deutlich und klar erscheint, ganz besonders schön und farbenprächtig bei dem Präparat aus Kirschlorbeeröl.

Die gekreuzte Dispersion ist deutlich erkennbar.

Die scheinbaren optischen Achsenwinkel dieser drei Präparate, in Cedernholzöl gemessen, sind folgende:

1. Präparat aus Kirschlorbeeröl, für

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
2 H = 46° 32′	46° 48′	47° 9′

2. Präparat aus Hondurasbalsam, für

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
2 H = 46° 35′	46° 50′	47° 11′

3. Präparat aus schwer löslicher Benzalmalonsäure

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
2 H = 46° 39′	46° 57′	47° 15′

b) Dibromid der synthetischen Zimtsäure.

Das Dibromid der synthetischen Zimtsäure ist bereits vor vielen Jahren von Bodewig gemessen worden.

1. **Dibromid der aus käuflichem Benzaldehyd dargestellten synthetischen Zimtsäure.**

Bodewig:	Richarz:

Krystallsystem: monosymmetrisch.

Achsenverhältnis:

$a:b:c = 0{,}23916:1:0{,}34693$ $a:b:c = 0{,}24239:1:0{,}35131$

Achsenschiefe:

$\beta = 78^\circ 38'$ $\beta = 78^\circ 39^1/_2'$

Beobachtete Formen:

$c\,(001)\,oP$, $b\,(010)\,\infty P(\text{Klino})\infty$, $p\,(11\bar{1}) + P$, $o\,(111) - P$.

Winkeltabelle.

			Beobachtet	Berechnet
$c:o$	$(001):(111)$	$\times 48^\circ 41'$	$\times 48^\circ 41'$	—
$o:o$	$(111):(1\bar{1}1)$	$\times 20^\circ 8'$	$\times 20^\circ 25'$.	—
$o:p$	$(111):(11\bar{1})$	$67^\circ 20'$	$\times 67^\circ 21'$	—
$p:p$	$(11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$	$24^\circ 8'$	$24^\circ 59'$	$25^\circ 7'$
$c:p$	$(001):(11\bar{1})$	$63^\circ 59'$	$54^\circ 2'$	$63^\circ 58'$
$p:o$	$(11\bar{1}):(1\bar{1}1)$	—	$72^\circ 5'$	$71^\circ 58'$

Die Krystalle des vorliegenden Präparates sind schlecht ausgebildet, die Winkelmessungen sind aber trotzdem nicht als angenäherte Werte anzusehen, weil einmal aus zahlreichen Messungen die Mittel genommen wurden und dann auch diese mit etlichen Werten übereinstimmen, die aus der Beobachtung zwar äußerst lichtschwacher, aber scharf umgrenzter Signale resultierten. Die Krystalle sind weiß, glasglänzend, in dünneren Tafeln klar durchsichtig. Ihre Flächen erscheinen zum Teil nach außen gewölbt, zum Teil konkav. Die Pyramidenflächen o (111) und p $(11\bar{1})$ treten fast immer lang und schmal auf, die Basis c (001) ercheint stark verkürzt. Nach der Symmetrieebene b (010) sind Parallelverwachsungen nicht selten.

Die optische Achsenebene steht senkrecht auf der Symmetrieebene (010) und für Na-Licht fast genau senkrecht zur Basis c (001).

Für Li-Licht weicht sie um etwa 1 bis 2° nach vorn ab, für Tl-Licht um ebensoviel nach hinten.

Die scheinbare Apertur der optischen Achsen, in Cedernholzöl gemessen, beträgt für

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
2 H = 54° 17′	55° 50′	56° 58′ app.

Diese Werte sind wegen des stets gestörten Interferenzbildes nur angenähert. Bodewig fand einen Winkel von app. 57 $^1/_2$ (Na-Licht). Der Brechungsquotient des von ihm benutzten Öles ist nicht angegeben.

Die Symmetrieachse ist die erste Mittellinie und Achse der kleinsten Elastizität. Der optische Charakter ist daher positiv.

2. Dibromid der aus natürlichem, blausäurefreiem Benzaldehyd (Schimmel) dargestellten synthetischen Zimtsäure.

Krystallsystem: monosymmetrisch.

Achsenverhältnis: $a:b:c = 0{,}23916:1:0{,}34693$.

Achsenschiefe: $\beta = 77^\circ\, 37\,^1/_2{}'$.

Beobachtete Formen: c (001) oP, p (11$\bar{1}$) + P, b (010) ∞P(Klino)∞, o (111) — P.

Winkeltabelle.

	Beobachtet	Berechnet
$o:o$ (111):(1$\bar{1}$1)	×20° 18′	—
$p:p$ (11$\bar{1}$):(1$\bar{1}\bar{1}$)	×24° 43′	—
$c:o$ (001):(111)	×48° 39′	—
$o:p$ (111):(11$\bar{1}$)	65° 33′	65° 36′
$p:c$ (11$\bar{1}$):(00$\bar{1}$)	65° 40′	65° 45′
$o:b$ (111):(010)	79° 50′	79° 51′
$p:o$ (11$\bar{1}$):(1$\bar{1}$1)	70° 39′	70° 20′

Dünne, nach der Symmetrieebene (010) abgespaltene Blättchen sind ziemlich klar und durchsichtig, zeigen aber ein gestörtes Interferenzbild. Die optische Achsenebene steht senkrecht auf der Symmetrieebene und für Na-Licht fast genau senkrecht zur Basis (001), für Li-Licht weicht sie um etwa 2° nach vorn, für Tl-Licht 1 bis 2° nach hinten ab. Der scheinbare optische Achsenwinkel, in Cedernholzöl gemessen, ergab für

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
app. 2 H = 56° 51′	57° 2′	57° 40′

Die Symmetrieachse ist die erste Mittellinie und Achse der kleinsten Elastizität, der optische Charakter ist also positiv.

Zum Vergleich wurden auch noch die Dichloride der Storax- und der synthetischen Zimtsäuren dargestellt und von Herrn Dr. Richarz untersucht.

c) Dichlorid der Storaxzimtsäure.

Krystallsystem: monosymmetrisch.

Achsenverhältnis: $a:b:c = 0,24827:1:0,33133$.

Achsenschiefe: $\beta = 79^{\circ}\,20^{1}/_{4}{}'$.

Beobachtete Formen: $c\,(001)\,oP$, $b\,(010)\,\infty P(\text{Klino})\infty$, $o\,(111) - P$, $p\,(11\bar{1}) + P$.

Winkeltabelle.

		Beobachtet	Berechnet
$o:c$	$(111):(110)$	$\times 47^{\circ}\,48'$	—
$o:o$	$(111):(1\bar{1}\bar{1})$	$\times 20^{\circ}\,24'$	—
$p:p$	$(11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$	$\times 24^{\circ}\,18'$	—
$o:b$	$(111):(010)$	$79^{\circ}\,49'$	$79^{\circ}\,48'$
$p:b$	$(11\bar{1}):(010)$	$77^{\circ}\,53'$	$77^{\circ}\,51'$
$p:c$	$(11\bar{1}):(00\bar{1})$	$60^{\circ}\,50'$	$60^{\circ}\,52'$
$o:p$	$(111):(11\bar{1})$	$71^{\circ}\,9'$	$71^{\circ}\,20'$
$o:p$	$(111):(1\bar{1}\bar{1})$	$74^{\circ}\,27'$	$74^{\circ}\,10'$

Die Krystalle ziemlich vollkommen spaltbar, auch die Symmetrieebenen sind klar und durchsichtig.

Das nur im homogenen Licht sichtbare Interferenzbild ist klar und deutlich. Die Apertur der optischen Achsen ziemlich groß. Der scheinbare optische Achsenwinkel, in Cedernholzöl gemessen, gab für

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
$2\,H = 136^{\circ}\,12'$	$137^{\circ}\,20'$	$138^{\circ}\,35'$

Die Symmetrieachse ist die zweite Mittellinie und Achse der kleinsten Elastizität. Der optische Charakter ist also negativ.

d) Dichlorid der synthetischen Zimtsäure.

Das Dichlorid der synthetischen Zimtsäure ist bereits von Bodewig und von Fock gemessen worden. Die Resultate sind im folgenden mit den Ergebnissen, die an einem, von garantiert chlorfreiem Benzaldehyd ausgehend, dargestellten

Zimtsäuredichlorid erhalten wurden, von Herrn Dr. Richarz zusammengestellt.

Bodewig:	Fock:	Richarz:
	Krystallsystem: monosymmetrisch.	
	Achsenschiefe: $\beta =$	
77° 23′	77° 59′	77° 45¹/₂′
	Achsenverhältnis: $a:b:c =$	
0,2306:1:0,3364	0,2445:1:0,3485	0,24089:1:0,35898

Winkeltabelle.

		Beob.	Ber.	Beob.	Ber.	Beob.	Ber.
$c:o$	(001):(111)	×47° 56′	—	×47° 54′	—	×48° 42′	—
$o:p$	(111):(11$\bar{1}$)	67° 15′	67° 1′	—	68° 18′	×65° 28′	—
$o:o$	(111):(1$\bar{1}$1)	19° 18′	19° 14′	—	19° 54′	×20° 16′	—
$o:b$	(111):(0$\bar{1}$0)	80° 25′	80° 23′	80° 3′	79° 51′	79° 54′	79° 52′
$p:c$	(11$\bar{1}$):(00$\bar{1}$)	×65°	—	×63° 53′	—	66° 3′	66°
$p:p$	(11$\bar{1}$):(1$\bar{1}\bar{1}$)	23° 22′	23° 30′	24° 38′	—	24° 39′	24° 46′
$o:p$	(111):(1$\bar{1}\bar{1}$)	×71° 14′	—	—	—	70° 45′	70° 32′

Das Interferenzbild erscheint gestört. Es fehlen stets die Hyperbeläste. Im innersten Ringe der Lemniskaten ist nur der Hyperbelscheitel als Punkt deutlich zu erkennen.

Die scheinbare Apertur, in Cedernholzöl gemessen, ergab für

	Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
app. 2 H =	136° 5′	137° 16′	138° 25′

Die Symmetrieachse ist die zweite Mittellinie und Achse der kleinsten Elastizität. Der optische Charakter ist also negativ.

Beim Vergleiche der beiden Zimtsäuredichloride mit den entsprechenden Dibromiden ergibt sich Isomorphie. Dabei nähert sich das Dichlorid der Storaxsäure im Achsenverhältnis und in der Achsenschiefe den Storaxzimtsäuredibromiden. Das Dichlorid der synthetischen Zimtsäure neigt dagegen mehr den Dibromiden der synthetischen Zimtsäure zu. Die Achsenschiefe weicht von dem Präparate aus synthetischem Benzaldehyd nach der Berechnung nur um 8′ ab. Optisch weist auch hier das gestörte Interferenzbild des synthetischen Präparates auf eine nicht einheitliche Substanz hin. Das Storaxpräparat zeigte fast immer ein ungestörtes Achsenbild. Auffallend aber ist

die Abweichung im optischen Achsenwinkel und optischen Charakter von den Dibromiden. Bei den Dibromiden ist die Symmetrieachse die erste Bisectrix, bei den Dichloriden ist sie die zweite.

Die Dibromide haben positiven Charakter, die Dichloride sind optisch negativ. Die optischen Achsenwinkel beider Dichloride stimmen überein, bei den Dibromiden weichen sie um ca. 10° voneinander ab.

Die bei der Storax- und synthetischen Zimtsäure aufgefundene Verschiedenheit kommt also auch bei den krystallographischen Konstanten ihrer Dibromide und Dichloride deutlich zum Ausdruck.

Besonders bemerkenswert erscheint mir die große Übereinstimmung der Messungsresultate der synthetischen Dibromide und Dichloride, die zu ganz verschiedenen Zeiten an Präparaten verschiedener Darstellung von verschiedenen Beobachtern festgestellt wurden.

Diese Übereinstimmung spricht sehr dafür, daß die synthetische Zimtsäure nicht ein zufälliges Gemisch, das doch bei verschiedener Behandlungsweise in seinen Eigenschaften wechseln müßte, sein kann, sondern daß sie vielmehr eine Kombination von recht konstanten Eigenschaften vorstellt.

5. Von derselben Art wie bei den Zimtsäuren sind die Unterschiede bei den aus 75°/₀ Alkohol krystallisierten sauren Kaliumsalzen.

Das saure Kaliumsalz der Storaxzimtsäure bildet wohlausgebildete, linealartige Krystalle; das Kaliumsalz der synthetischen Säure silberglänzende Blättchen ohne geradlinige Umgrenzungslinien.

Aus jedem der beiden Salze wird die zur Darstellung verwendete Säure unverändert zurückgewonnen.

6. Sehr verschieden erweisen sich die Äthylester der synthetischen und der Storaxzimtsäure.

Sie unterscheiden sich nicht nur im Geruch, sondern verhalten sich ganz besonders bei der Destillation vollständig verschieden.

Der Ester der Storaxzimtsäure destilliert wie eine einheitliche Substanz innerhalb von $2^1/_2$ bis 3°, ohne mehr Rückstand zu hinterlassen, als es dem durch die Größe des Gefäßes bedingten Dampfvolumen entspricht.

Der Ester der synthetischen Zimtsäure dagegen geht in einem Intervall von 12 bis 13° über unter Hinterlassung eines erheblichen Rückstandes.

Dieses abweichende Verhalten des synthetischen Zimtsäureesters lieferte mir den Beweis, daß er ein Gemisch ist und bestärkte mich in der Ansicht, daß es sich um ein Gemisch gleichzusammengesetzter Ester handeln müsse, da mir das abweichende Verhalten nicht durch die Annahme einer kleinen, bei der Analyse unbemerkt bleibenden Verunreinigung erklärbar erschien.

7. Der entscheidende Beweis für die Verschiedenheit von Storax- und synthetischer Zimtsäure und für die Annahme, daß die synthetische Zimtsäure ein Gemisch vorstellt, wurde erbracht durch die nach der folgenden Methode dutzendmal mit gleichem Resultat ausgeführten Trennungen der synthetischen Zimtsäuren in Storaxzimtsäure und in eine von ihr und der synthetischen Zimtsäure verschiedene Säure, die, da sie bei der Verbrennung die für die Formel $C_9H_8O_2$ stimmenden Werte ergab, als Heterozimtsäure bezeichnet wurde.

Die Trennung gelingt:

1. durch sehr häufig wiederholte Fraktionierung des synthetischen Zimtsäureesters.

Es gelingt auf diesem Wege relativ leicht Heterozimtsäure, dagegen nur sehr schwer eine heterozimtsäurefreie Storaxzimtsäure abzuscheiden. Wie gezeigt, enthält auch die käufliche Storaxzimtsäure noch etwa $^1/_2$ % Heterozimtsäure.

2. Durch Addition von unterchloriger Säure an synthetische Zimtsäure.

Man addiert nach der Methode von Erlenmeyer sen. und Lipp[1]) derart unterchlorige Säure an synthetische Zimtsäure, daß 10 % der angewandten Zimtsäure unverändert bleiben.

Die unverändert gebliebene Zimtsäure, aus heißem Wasser und danach aus Äther krystallisiert, besitzt die Eigenschaften der Hetero-β-Zimtsäure.

Bei einem Kontrollversuch mit Storaxzimtsäure besaß die unverändert gebliebene Zimtsäure die charakteristischen Eigenschaften der Storaxzimtsäure.

---

[1]) Liebigs Annalen 219, 183, 1883.

3. Durch fraktionierte Fällung der Lösung des Natriumsalzes der synthetischen Zimtsäure in 10 gleichen Teilen[1]).

Es ist zweckmäßig, nicht mehr als 20 bis 30 g Zimtsäure auf einmal zu verarbeiten. Das erste Zehntel der ausgefällten Säure besitzt bei der Ausscheidung aus heißem Wasser und beim Verdunsten der ätherischen Lösung die für die Hetero-β-Zimtsäure charakteristischen Eigenschaften. Die Fällungen 2 bis 5 zeigen den Charakter von Gemischen, die Fraktionen 6 bis 10 bestehen aus reinster Storaxzimtsäure.

Diese auf chemischem Wege erfolgenden Trennungen lassen keinen Zweifel darüber, daß die Komponenten der synthetischen Zimtsäure nicht nur physikalisch, sondern auch chemisch verschiedene Säuren vorstellen.

2. Bestätigung einer Reihe der mitgeteilten Beobachtungen durch frühere Autoren.

Von diesen für die Beurteilung der Natur der synthetischen Zimtsäure so überaus wichtigen Beobachtungen fand ich nachträglich einige durch Aufzeichnungen früherer Assistenten meines Vaters, die in dessen nachgelassenen Papieren enthalten waren, bestätigt.

So beschreibt mein Freund, Herr Dr. O. Baither, jetzt Direktor bei der chemischen Fabrik Griesheim, der um 1890 bei meinem Vater Assistent war, eine Destillation von synthetischem Zimtsäureester in der folgenden Weise.

Zur Destillation gelangten 50 g frisch dargestellter Ester, dessen ätherische Lösung 24 Stunden über frisch geglühtem Kaliumcarbonat gestanden hatte und dann vom Äther durch Destillation befreit worden war.

„Die erste Fraktion ging von 260 bis 265° über = 20,3 g. Die zweite Fraktion von 265 bis 270° = 8 g (Siedepunkt des Zimtsäureesters in der Literatur angegeben zu 271°). Der im Fraktionskölbchen noch befindliche braunschwarz gefärbte Rückstand wurde in das Esterdibromid verwandelt.“

Nach dieser Beobachtung Baithers geht etwas mehr als die Hälfte des synthetischen Zimtesters unter dem angegebenen Siedepunkt des Zimtesters über, der Rest, der als Rückstand verbleibt, dagegen höher.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 519, 1909.

Übereinstimmend mit dieser Beobachtung gibt Claisen[1]) an, daß der von ihm aus synthetischem Benzaldehyd, Essigester und Natrium dargestellte Zimtsäureester, von dem ich nachgewiesen habe, daß ihm synthetische Zimtsäure zugrunde liegt, der Hauptsache nach bei 260 bis 270° übergeht.

Weiter fand ich die Beschreibung einer fraktionierten Fällung von synthetischer Zimtsäure, die Herr Dr. Pollitz im Jahre 1891 bei meinem Vater ausgeführt hat, aus der sich ergibt, daß er in den ersten Fraktionen die niedriger schmelzende Hetero-β-Zimtsäure, die sich erst ölig abschied und dann amorph fest wurde, unter Händen hatte, sie jedoch als eine durch Benzoesäure verunreinigte Zimtsäure ansprechen zu müssen glaubte.

Endlich ist auch die Bildung der Heterozimtsäure bei der unvollständigen Anlagerung von unterchloriger Säure an synthetische Zimtsäure bereits in einer im Jahre 1882 bei meinem Vater ausgeführten Inauguraldissertation von Georg W. Jutz[2]) beschrieben worden. Nach den Angaben von Jutz blieben von 50 g Zimtsäure bei der Addition von unterchloriger Säure 10 bis 15 g unangegriffen. Die aus Wasser krystallisierte, unangegriffene Säure schmolz konstant niedriger. Jutz sah sich daher veranlaßt, auf die Anwesenheit von Chlorzimtsäure und Benzoesäure zu prüfen. Keine der beiden Säuren ließ sich jedoch nachweisen.

Durch die Übereinstimmung der Beobachtungen früherer Autoren mit den meinigen werden diese in völlig unparteiischer Weise bestätigt.

Aus den bisherigen Ausführungen ergeben sich die folgenden Tatsachen:

1. Die synthetische Zimtsäure und die natürliche Storaxzimtsäure sind verschieden.

2. Die käufliche Storaxzimtsäure stellt bis auf etwa 0,5°/₀ Heterozimtsäure eine einheitliche Substanz vor.

3. Die synthetische Zimtsäure ist ein Gemisch von Storaxzimtsäure und einer beträchtlichen Menge Heterozimtsäure.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 977, 1890.

[2]) Über Bildungs- und Zersetzungsweisen einiger Derivate der Zimtsäure von G. W. Jutz. Zürich 1882.

Der Beweis hierfür wurde nicht nur durch die Trennung der synthetischen Zimtsäure in Storax- und Heterozimtsäure, sondern auch durch deren Wiedervereinigung zu synthetischer Zimtsäure erbracht.

3. Über die Unterschiede von Storax- und Heterozimtsäure.

1. Beträchtlicher Unterschied in der Löslichkeit in Wasser, Äther und Ligroin. Die Heterosäure ist in allen genannten Mitteln erheblich löslicher als Storaxzimtsäure.

2. Auffälliger Unterschied im Geruch ihrer beiden Ester und im Geschmack der beiden Säuren.

3. Unterschied im Schmelzpunkt, im Capillarrohr erhitzt:

Heterozimtsäure 128 bis 129°;
Storaxzimtsäure 134 bis 135°.

Ein fast vollständig übereinstimmendes Verhalten beobachtet man dagegen, wenn man je 9 g der beiden Säuren im Beckmannschen Apparat schmilzt und sodann den Erstarrungspunkt beobachtet.

Bei dem Erstarren der Schmelze der Storaxsäure blieb das in die Schmelze eingesenkte Thermometer 6′ 5″ zwischen 132 bis 131°, bei dem Erstarren der Heterozimtsäureschmelze sogar 7′ 20″ bei der nämlichen Temperatur stehen. Bei wiederholtem Schmelzen und Wiedererstarrenlassen nimmt die angegebene Zeit bei beiden Säuren ab, etwas mehr bei der Heterozimtsäure, was wohl auf eine geringe Zersetzung zurückzuführen ist. Die wiedererstarrte Schmelze der Heterozimtsäure zeigt sich nach der Krystallisation aus heißem Wasser unverändert.

Wodurch der beim Erhitzen im Capillarrohr tieferliegende Schmelzpunkt der Heterozimtsäure bedingt ist, muß dahingestellt bleiben.

Nach dem Ausfall der Bestimmung des Erstarrungspunktes bei der Heterozimtsäure kann an eine Verunreinigung nicht gedacht werden.

4. Sehr charakteristischer Unterschied bei der Ausscheidung aus heißem Wasser und beim Verdunsten der ätherischen Lösungen.

Während sich die Storaxzimtsäure aus heißem Wasser immer in glänzenden Blättchen abscheidet, ohne vorhergehende Trübung der Lösung, tritt beim Abkühlen einer heißen, wässe-

rigen Lösung von Heterozimtsäure zuerst ölige Trübung ein und sodann findet Abscheidung eines mikrokrystallinischen, scheinbar amorphen Niederschlags von bläulich-weißem Farbenton statt.

Aus Äther erhält man die Storaxzimtsäure, auch wenn sie sehr unrein ist, immer in dicken, prachtvoll ausgebildeten Krystallen, während die Hetero-β-Zimtsäure sich in kreidig aussehenden Globuliten abscheidet, die, an der Wandung des Gefäßes zusammenwachsend, oft einen gleichmäßigen, porzellanartigen Überzug bilden.

5. Verschiedenheit der sauren Kaliumsalze, aus 75 %igem Alkohol krystallisiert. Das Kaliumsalz der Storaxzimtsäure schön ausgebildete Krystalle, das der Heterozimtsäure mikrokrystallinisches, scheinbar kreidiges Pulver.

6. Verschiedenheit der Dibromide in Löslichkeit, Größe und Dickenwachstum. Unterschied in den krystallographischen Konstanten.

Von Herrn Dr. Richarz wurden drei auf verschiedene Weise dargestellte Heterodibromide gemessen und untereinander vollständig übereinstimmend, dagegen verschieden von den Dibromiden der Storaxzimtsäure und der synthetischen Zimtsäure gefunden.

1. Dibromid der Heterozimtsäure, aus der früher von Kahlbaum in den Handel gebrachten chlorhaltigen synthetischen Zimtsäure dargestellt durch Destillation des Esters.

Krystallsystem: monosynometrisch.

Achsenverhältnis: $a : b : c = 0{,}25730 : 1 : 0{,}33346$.

Achsenschiefe: $\beta = 82^0\,29'$.

Beobachtete Formen: $c\,(001)\,oP$, $o\,(111) - P$, $b\,(010) \infty P$(Klino) $\infty p\,(11\bar{1}) + P$.

Winkeltabelle.

	Beobachtet	Berechnet
$c : o\ (001) : (111)$	$\times\,48^0\,36'$	—
$o : p\ (111) : (11\bar{1})$	$\times\,73^0\,27'$	—
$p : p\ (11\bar{1}) : (1\bar{1}\bar{1})$	$\times\,24^0\,24'$	—
$o : o\ (111) : (1\bar{1}1)$	$21^0\,29'$	$21^0\,31'$
$p : c\ (11\bar{1}) : (00\bar{1})$	$58^0\,1'$	$57^0\,57'$
$p : o\ (11\bar{1}) : (1\bar{1}1)$	—	$78^0\,3'$
$o : b\ (111) : (010)$	$79^0\,16'$	$79^0\,15'$

Die Krystalle dieses Präparates bilden dünne, glasklare Blättchen, die selten die regelmäßigen Umrisse der Krystallform zeigen.

Die beobachteten Krystallflächen waren zwar äußerst klein, aber doch glatt und eben. Die Signale erschienen sehr lichtschwach, jedoch scharf umgrenzt, so daß den Messungen wenig Ungenauigkeit anhaften dürfte.

Im Gegensatz zu den synthetischen Zimtsäuredibromiden ist das Achsenbild des Heterozimtsäuredibromids ungestört, klar und deutlich; im weißen Lichte betrachtet, äußerst farbenprächtig. Die Ebene der optischen Achsen steht senkrecht zur Symmetrieebene. Die Auslöschungsrichtung ist auf *b* (010) gegen die Basis geneigt, und zwar für Li-Licht um etwa 2 bis 3° nach vorn, für Na-Licht etwa $^1/_2$° in derselben Richtung, für Tl-Licht um etwa 2° nach hinten. Die Symmetrieachse ist die erste Mittellinie und Achse der kleinsten Elastizität, der optische Charakter ist also positiv.

Die scheinbare Apertur der optischen Achsen, in Cedernholzöl gemessen, ergab für:

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
2 H = 55° 20′	55° 45′	56° 10′

2. Dibromid von Heterozimtsäure aus synthetischem Zimtsäureester, der aus chlor- und blausäurefreiem, natürlichem Benzaldehyd der Firma Schimmel gewonnen wurde, durch Destillation herausgearbeitet.

Krystallsystem: monosymmetrisch.
Achsenschiefe: $\beta = 82° 30'$.
Achsenverhältnis: $a : b : c = 0{,}25521 : 1 : 0{,}33164$.
Beobachtete Formen: $c\,(001)\,oP$, $o\,(111) - P$,
$b\,(010) \infty P$(Klino) ∞ $p\,(11\bar{1}) + P$.

Winkeltabelle.

	Beobachtet	Berechnet
$o : o\ (111) : (1\bar{1}1)$	×21° 24′	—
$b : p\ (11\bar{1}) : (010)$	×77° 48′	—
$p : o\ (11\bar{1}) : (111)$	×73° 19′	—
$o : c\ (111) : (011)$	48° 36′	48° 22′
$p : c\ (11\bar{1}) : (00\bar{1})$	57° 57′	58° 19′
$o : p\ (1\bar{1}1) : (11\bar{1})$	77° 52′	77° 56′
$o : b\ (111) : (010)$	79° 20′	79° 18′

Die kleinen Krystalle sind schön glasklar und lassen ebenso wie das erste Heterozimtsäuredibromid ein farbenprächtiges Interferenzbild mit gekreuzter Dispersion erkennen. Die Lage der optischen Achsenebene ist dieselbe, der optische Charakter ist ebenfalls positiv.

Der scheinbare optische Achsenwinkel, in Cedernholzöl gemessen, beträgt für:

Li-Licht	Na-Licht	Tl-Licht
2 H = 55° 22′	55° 42′	56° 7′

3. Dibromid von Hetorozimtsäure aus synthetischer Zimtsäure, die mit Hilfe von garantiert chlorfreiem künstlichen Benzaldehyd der Firma Schimmel dargestellt wurde, durch fraktionierte Fällung abgeschieden.

Das Präparat stimmt mit den beiden obigen vollkommen überein. Es zeigt wie diese ein klares, deutliches Interferenzbild $2 H_D$ in Cedernholzöl = 55° 40′.

Der Winkel $o:p\,(111):(11\bar{1}) = 73°\,27'$ findet sich nur bei den drei untersuchten Dibromiden der Heterozimtsäure.

Die krystallographischen Unterschiede bei den Dibromiden kommen am deutlichsten bei der Achsenschiefe, dem optischen Achsenwinkel und dem Winkel $o:p$ zur Geltung.

Dibromid	Achsen-schiefe	optischer Achsenwinkel	$o:p\,(111):(11\bar{1})$
der Storaxzimtsäure	78° 17′	46° 57′	69° 50′
„ synth. Zimtsäure	78° 38′	55° 50′	65° 36′
„ Heterozimtsäure	82° 29′	55° 45′	73° 19′

Zu den bisher angeführten Verschiedenheiten der drei Zimtsäuren treten also noch hinzu die krystallographischen Unterschiede ihrer Dibromide.

7. Die Verschiedenheit in der Leitfähigkeit, von C. Bube gemessen.

8. Verschiedenheit in der Reaktionsgeschwindigkeit

a) bei der Addition von Brom. Storaxzimtsäure nimmt schneller Brom auf, als Heterozimtsäure.

b) bei der Addition von unterchloriger Säure. Storaxzimtsäure schneller als Heterozimtsäure. Darstellungsweise von Heterozimtsäure aus synthetischer Zimtsäure.

9. Unterschied in der Säurestärke. Die Heterozimtsäure fällt, obwohl leichter löslich, zuerst bei der fraktionierten Fällung aus und stellt somit die schwächere Säure vor. Übereinstimmung mit den Resultaten bei der Leitfähigkeitsmessung.

Nachdem der Leser die bisher aufgefundenen Unterschiede von Storax- und Heterozimtsäure kennen gelernt hat, handelt es sich jetzt darum, die Konstitution der neben Storaxzimtsäure in der synthetischen Zimtsäure enthaltenen Begleitsäure zu beweisen.

4. Individualitäts- und Konstitutionsbestimmung der Heterozimtsäure.

Der Konstitutionsbestimmung einer chemischen Verbindung hat der Beweis für ihre Einheitlichkeit, oder wie man meist sagt, für ihre Reinheit vorauszugehen.

In den landläufigen Fällen glaubt man die Einheitlichkeit einer Substanz bewiesen zu haben, wenn man sich davon überzeugt hat, daß sie einen konstanten, d. h. durch Umkrystallisieren nicht mehr veränderlichen Schmelzpunkt zeigt und wenn sie bei der Verbrennung die erwarteten Werte ergibt. Relativ selten, meist nur dann, wenn die Substanz ohne Mühe gute Krystalle gibt, wird auch die Krystallform festgelegt.

Da die krystallographische Untersuchung nicht nur eine einzige, sondern eine Menge von genau meßbaren, in Zahlen ausdrückbaren, nicht variablen Größen als Merkmale liefert, so scheint mir diese Methode vor allen anderen dazu geeignet zu sein, eine chemische Verbindung als Individuum, d. h. als einheitliche Substanz zu charakterisieren, und ich habe deshalb bei dieser schwierigen Untersuchung auf die Feststellung der krystallographischen Konstanten das größte Gewicht gelegt.

Wollte man sich bei der Untersuchung der Zimtsäuren nur auf die Schmelzpunkte und die Analyse stützen, so käme man, wie ich schon früher erwähnt habe, zu dem Resultat, daß ein Unterschied zwischen den einzelnen Zimtsäuren nicht vorhanden ist, sie vielmehr alle als identisch zu betrachten sind.

Erkennt man aber die vorhin aufgeführten Unterschiede als Verschiedenheiten an, so müßte man unbedingt auf Grund der genau stimmenden Analyse der Heterozimtsäure den Schluß ziehen, daß die synthetische Zimtsäure aus isomeren Kom-

ponenten besteht, wenn es statthaft wäre, von den gut stimmenden Analysen einer Substanz auf deren Einheitlichkeit zu schließen.

Dies ist aber leider ganz und gar nicht der Fall; die Sache liegt vielmehr in Wirklichkeit so, daß jede Substanz, die bei der Verbrennung auf eine bestimmte Formel „gut stimmende", d. h. bis auf 0,1 bis 0,2% genaue Werte gibt, bequem 1, 5, 10, ja unter Umständen 20% einer anderen organischen Verbindung, die also gleichfalls bei der Verbrennung CO_2 und H_2O liefert, enthalten kann.

Denkt man sich eine Substanz, die 70% C enthält, mit 1% einer Substanz, die 50% C enthält, vermischt, so berechnet sich der theoretische Kohlenstoffgehalt dieser Mischung wie folgt: $70 - 0{,}70 + 0{,}50 = 69{,}8\%$.

Für jedes weitere Prozent Beimengung der gleichen Substanz fällt der Wert um weitere $0{,}70 - 0{,}50 = 0{,}2\%$, d. h. also, bei m% Beimengung sind $0{,}2 \cdot m\%$ zu wenig Kohlenstoff zu erwarten.

Je näher der Kohlenstoffwert der beigemengten Substanz dem Kohlenstoffwert der Grundsubstanz liegt, um so mehr Prozente wird man der Grundsubstanz beifügen können, ohne dadurch das Analysenresultat wesentlich zu beeinflussen.

Geht man von Zimtsäure, für die sich 72,97% C berechnet, als Grundsubstanz aus und vermischt diese mit Benzoesäure, deren Kohlenstoffgehalt 68,85 beträgt, so ist der Einfluß, den die Beimischung von 1% Benzoesäure bewirkt, $0{,}7297 - 0{,}6885 = 0{,}0412\%$.

Danach gibt also ein Gemisch von Zimtsäure mit 5% Benzoesäure noch gut auf Zimtsäure stimmende Werte. Der Wasserstoffgehalt dieser Mischung liegt nur 0,25% über dem Wert der Zimtsäure.

Von Phenylpropionsäure, Phenylpropiolsäure, Methylzimtsäure können ca. 20% der Zimtsäure beigemengt sein, ohne daß sich ihre Anwesenheit bei der Analyse verrät.

Von Chlorzimtsäure und Oxyzimtsäure können ca. 3%, von Sulfozimtsäure 1% der Zimtsäure beigemischt sein, ohne daß sich die Beimengung bei einer gut gelungenen Verbrennung durch Werte, die mehr als erlaubt von dem theoretischen Wert abweichen, bemerkbar macht.

Die angeführten Beispiele genügen, um zu zeigen, daß eine gewöhnlich als gut stimmend bezeichnete Analyse durchaus kein Kriterium für die Reinheit der verbrannten Substanz, d. h. für die Abwesenheit anders zusammengesetzter Begleitstoffe darstellt.

Wie mir scheint, wird der Wert der Analyse in dieser Hinsicht bisweilen sehr überschätzt.

Wenn aber, wie gezeigt, die Analysenzahlen keinen Aufschluß über die Reinheit oder Einheitlichkeit einer Verbindung geben, so ist es einleuchtend, daß die Ausführung der Verbrennung einer organischen Substanz überhaupt erst dann einen Sinn hat, wenn man sich vorher auf alle erdenkliche Weise die Überzeugung verschafft hat, daß die Substanz wirklich einheitlich ist.

Einen positiven chemischen Beweis für die Einheitlichkeit einer Verbindung zu erbringen, ist nicht möglich, da man nur zeigen kann, daß die fragliche Verbindung unter bestimmten erprobten Bedingungen nicht mehr in Bestandteile verschiedener Eigenschaften trennbar ist. Wie aber die Erfahrung gelehrt hat, kann eine nicht gelungene Trennung niemals für alle Zeiten ein Beweis für die Untrennbarkeit sein.

Es scheint mir daher sehr wünschenswert, möglichst oft, ganz besonders aber in zweifelhaften Fällen, die Individualität einer zur Untersuchung vorliegenden Substanz durch die an der Substanz selbst oder, wenn diese keine meßbaren Krystalle liefert, an einem geeigneten Derivat vorzunehmende Messung der geometrischen und optischen Konstanten festzustellen. Erst wenn dies geschehen ist, sollte die weitere Untersuchung erfolgen, und erst dann erhält das Resultat der Verbrennung, selbst wenn sie nicht absolut genau stimmt, Beweiskraft.

Bei der Untersuchung der Heterozimtsäure ist dieser Anforderung durch Festlegung der Individualität des Heterozimtsäuredibromids, aus dem sich die Heterozimtsäure regenerieren läßt, durch Messung der Krystalle Genüge geschehen und damit auch die Vorbedingung für die Ermittlung der Konstitution erfüllt.

Das krystallographisch untersuchte Heterodibromid (F. P. 204° für Zimtsäuredibromid, in der Literatur angegeben 195 resp. 201°) gab bei der Analyse die folgenden Werte:

1. 0,1133 gaben 0,1375 AgBr.
2. 0,1146 „ 0,1489 CO_2 und 0,0278 H_2O.

	Ber. für $C_9H_8O_2Br_2$	Gef. I	Gef. II
C	35,06	—	35,44
H	2,60	—	2,70
Br	51,95	51,63	—

Die Heterozimtsäure ließ sich also durch die krystallographische Untersuchung ihres Dibromids, Winkel $\beta = 82^\circ 30'$, $o:p = 73^\circ 27'$, optischer Achsenwinkel $= 55^\circ 40'$, als ein von der Storaxzimtsäure, deren Dibromid den Winkel $\beta = 78^\circ 17'$, $o:p = 69^\circ 50'$ und optischen Achsenwinkel $46^\circ 34'$ aufweist, verschiedenes selbständiges Individuum festlegen. Die Einheitlichkeit des Heterodibromids ergibt sich aus dem vollständig ungestörten Achsenbild.

Nach den Analysen der Heterozimtsäure und ihres Dibromids und nach der Art ihrer Gewinnung bleibt nur der Schluß möglich, daß Heterozimtsäure die gleiche Struktur wie die Storaxzimtsäure besitzt.

5. Beweis für die Strukturgleichheit aller in der synthetischen Zimtsäure möglicherweise enthaltenen Säuren, insbesondere der Storax- und Heterozimtsäure.

Im folgenden soll gezeigt werden, wie es in dem vorliegenden Fall möglich war, unabhängig von der Frage nach der Einheitlichkeit der Heterozimtsäure und ohne die Analyse als Hilfsmittel heranzuziehen, sowie unter Berücksichtigung der Möglichkeit der Beimengung einer Säure anderer Zusammensetzung zu beweisen, daß die in der synthetischen Zimtsäure neben Storaxzimtsäure vorhandenen Begleitsäuren die gleiche Konstitution wie die Storaxzimtsäure besitzen müssen.

Dieser Beweis ist erbracht, wenn es gelingt, Storaxzimtsäure unter Bedingungen, unter denen eine Veränderung in der Zusammensetzung des Moleküls nach dem Stand unseres heutigen Wissens völlig ausgeschlossen ist, in synthetische Zimtsäure und damit auch in Heterozimtsäure, die aus dieser gewonnen wird, überzuführen.

Gelingt diese Umwandlung von Storax- in Heterozimtsäure, so kann die Heterozimtsäure, wenn man sie ihres geringen

Krystallisationsvermögens wegen als ein Gemisch betrachten will, nur ein Gemisch strukturgleicher Säuren sein.

Die Umwandlung von Storaxzimtsäure in Heterozimtsäure unter Bedingungen, unter denen eine Veränderung in der Zusammensetzung des Moleküls ausgeschlossen ist, stellt den einzigen Weg vor, auf dem es möglich ist, mit Sicherheit den Verdacht auszuschließen, daß auch nur die geringste nicht mehr nachweisbare zufällige Verunreinigung die Ursache der zwischen Storax- und Heterozimtsäure nachgewiesenen Verschiedenheiten ist.

a) Abhängigkeit der zwischen Storax- und Heterozimtsäure beobachteten Unterschiede von dem mit der Acrylsäuregruppe verbundenen aromatischen Rest.

Zu Beginn der Untersuchung lag der Verdacht, die synhetische Zimtsäure könne durch eine zufällig bei der Kondensation entstandene Begleitsäure verunreinigt sein, sehr nahe, und es wurde deshalb von Anfang an darauf Bedacht genommen, möglichst viele der irgendwie in Betracht kommenden Verunreinigungen durch das Experiment auszuschließen, um auf diese Weise der Erkenntnis der Natur der Begleitsäure näher zu kommen.

Die Vermutung, daß Benzoesäure die Begleitsäure sei, konnte leicht und mit Sicherheit widerlegt werden.

Da alle aus künstlichem, garantiert chlorfreiem Benzaldehyd Schimmel und aus dem natürlichen blausäurefreien Benzaldehyd und dem blausäurefreien Kirschlorbeeröl der gleichen Firma hergestellten synthetischen Zimtsäuren frei von Halogen, Stickstoff und Schwefel sind, können auch nicht halogen-, stickstoff- oder schwefelhaltige Säuren als Begleitsäuren in Betracht kommen.

Der Umstand, daß sich nicht nur bei der Perkinschen Reaktion, sondern auch bei allen anderen synthetischen Darstellungsweisen die Bildung von synthetischer Zimtsäure feststellen ließ, zeigt, daß es sich nicht um die Bildung einer zufälligen Verunreinigung handeln kann.

Das Verhalten des synthetischen Zimtsäureäthylesters bei der fraktionierten Destillation und das Verhalten der synthetischen Zimtsäure bei der Trennung durch fraktionierte Fällung

machte es mehr als wahrscheinlich, daß die Menge der in der synthetischen Zimtsäure vorhandenen Begleitsäure recht beträchtlich sein müsse, so beträchtlich, daß man ihre Anwesenheit auch bei der Verbrennung, wenn nicht der synthetischen Säure, so doch sicher der Heterozimtsäure, hätte nachweisen können müssen, vorausgesetzt, daß ihre Zusammensetzung von der der Zimtsäure verschieden wäre.

b) Erhaltung der bei den Zimtsäuren nachgewiesenen Unterschiede beim Durchgang durch Salze und Derivate.

Von größter Wichtigkeit für die Beurteilung der Natur der Begleitsäure war der früher erwähnte Nachweis, daß sich Storax-, synthetische und Heterozimtsäure in Salze verwandeln und aus diesen wieder nach dem Umkrystallisieren des Salzes unverändert abscheiden lassen.

Ein noch weitergehender Aufschluß über die Natur der Begleitsäure ergibt sich aus dem Verhalten der Zimtsäuren bei der Umwandlung in die im folgenden angeführten Derivate und bei der darauf folgenden Rückbildung der Zimtsäuren aus diesen.

Es hat sich dabei ergeben, daß auch bei diesen Umwandlungsreaktionen der Charakter der angewandten Zimtsäure meistens erhalten bleibt.

1. Storaxzimtsäure—Dibromid—Storaxzimtsäure.

2. Heterozimtsäure—Dibromid—Heterozimtsäure.

3. Synthetische Zimtsäure—Dibromid—Phenylbrommilchsäure—Cinchoninsalze—aktive Phenylbrommilchsäure—synthetische Zimtsäure.

4. Synthetische Zimtsäure—Dibromid—β-Bromzimtsäure—synthetische Zimtsäure.

5. Storaxzimtsäure—Dibromid—Phenylbrommilchsäure—Storaxzimtsäure.

6. Storaxzimtsäure—Dibromid—Phenylbrommilchsäure—Phenylmilchsäure—Storaxzimtsäure.

7. Storaxzimtsäure—Dibromidester—Phenylpropiolsäure—Storaxzimtsäure.

8. Heterozimtsäure—Dibromidester—Phenylpropiolsäure—Heterozimtsäure (einmal auch synthetische und Storaxzimtsäure).

Nach diesen Versuchsergebnissen ist es selbstverständlich, daß die mit Storaxzimtsäure in der synthetischen Zimtsäure

vereinigte Begleitsäure keine zufällige und beliebige Verunreinigung sein kann, vielmehr muß sie eine der Storaxzimtsäure nahestehende Säure sein, die zum mindesten in bezug auf die Gruppe —CH═CH—COOH mit dieser strukturgleich ist, da es sonst nicht möglich wäre, daß sie die unter 3, 4 und 6 genannten Umwandlungsreaktionen, ohne bei der Reinigung der Zwischenprodukte zu verschwinden, mit durchmachen könnte.

Da auch die aus der Heterozimtsäure gewonnene Heterophenylpropiolsäure durch Reduktion wieder in Heterozimtsäure übergeführt werden konnte, so muß die Ursache der Verschiedenheit von Storax- und Heterozimtsäure in dem mit der Gruppe —CH═CH—COOH verbundenen aromatischen Rest gesucht werden.

Ist diese Schlußfolgerung richtig, so muß sich experimentell beweisen lassen, daß es 2 Benzaldehyde gibt, von denen der eine bei der Perkinschen Reaktion Storaxzimtsäure, der andere Heterozimtsäure liefert, während das Gemisch beider dem synthetischen Benzaldehyd, aus dem bei der Kondensation synthetische Zimtsäure gebildet wird, entspricht.

c) Abhängigkeit der Unterschiede bei der Zimtsäure von den zur Darstellung benutzten Benzaldehyden.

Durch sehr oft mit gleichem Resultat wiederholte Versuche, auf die in der nächsten Abhandlung eingegangen wird, ließ sich feststellen, daß alle natürlichen, die Blausäure noch enthaltenden Benzaldehyde bei der Perkinschen Reaktion fast reine Storaxzimtsäure liefern. Am besten eignet sich zu den Versuchen der nur ca. 2 % Blausäure enthaltende natürliche Benzaldehyd der Firma Gehe. Etwa die Hälfte dieses Aldehyds geht infolge des Gehalts an Blausäure unter 178° über und gibt bei der Kondensation einheitliche Storaxzimtsäure.

Zum Unterschied von diesem natürlichen blausäurehaltigen Benzaldehyd gelingt es nicht, aus dem künstlichen chlorfreien Benzaldehyd oder dem blausäurefreien natürlichen Benzaldehyd, auch nicht durch öftere Destillation, einheitlichen Storaxaldehyd zu gewinnen, dagegen gelingt es stets, aus diesen Aldehyden einen schwerer flüchtigen Anteil herauszuarbeiten, aus dem bei der Perkinschen Reaktion Heterozimtsäure entsteht.

Den gleichen, sehr stechend riechenden Aldehyd, der bei der Kondensation Heterozimtsäure liefert, erhält man auch bei der Oxydation von Heterozimtsäure mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung.

Diese Versuche beweisen also einwandfrei, daß den 3 Zimtsäuren, der synthetischen, der Storax- und der Heterozimtsäure, tatsächlich 3 Benzaldehyde entsprechen, aus denen die 3 verschiedenen Zimtsäuren bei der Kondensation mit Natriumacetat und Essigsäureanhydrid entstehen.

Damit ist die Verschiedenheit der Zimtsäuren auf die Verschiedenheit bei den Benzaldehyden zurückgeführt. Da aber die Benzaldehyde flüssig sind, fällt die Möglichkeit weg, die Verschiedenheit durch Polymerie oder Polymorphie zu erklären.

Zur Erklärung der Existenz verschiedener Benzaldehyde bleiben nur die beiden folgenden Annahmen übrig:

1. Der Benzolkern vermag, wie v. Baeyer zuerst angenommen hat, in zwei, vielleicht auch noch mehr Zuständen verschiedener Stabilität zu existieren, die die aufgefundenen Verschiedenheiten bei den Zimtsäuren und den mit ihnen genetisch verknüpften Benzaldehyden bedingen.

2. Der synthetische und der Heterobenzaldehyd enthalten geringe Mengen eines substituierten Benzaldehyds oder eines anderen Aldehyds mit einem anderen, dem Phenyl ähnlichen Radikal.

Die v. Baeyersche Annahme hat als bewiesen zu gelten, wenn es gelingt, die zweite Annahme auszuschließen.

d) Beweis für die Abwesenheit irgendeines anders zusammengesetzten Aldehyds im synthetischen Benzaldehyd.

Die einwandfreie experimentelle Ausschließung des Vorhandenseins aller denkbaren substituierten Benzaldehyde oder von Aldehyden mit einem dem Phenyl ähnlichen Radikal ist keine leichte Aufgabe, zumal die üblichen Methoden, insonderheit die Elementaranalyse, vollständig versagen.

Von substituierten Benzaldehyden, die etwa als Verunreinigung im synthetischen Benzaldehyd enthalten sein könnten, kommen allein in Betracht: halogen-, stickstoff-, schwefelhaltige

Benzaldehyde, ferner homologe, hydroxylierte und alkyloxylierte Benzaldehyde und solche mit gemischten Substituenten.

Von Aldehyden mit einem dem Phenyl ähnlichen Radikal könnten Thiophenaldehyd, Furfurol oder Aldehyde mit anderen Kohlenstoffringen in Frage kommen.

Durch Verwendung von halogen-, stickstoff- und schwefelfreien Materialien zur Darstellung der synthetischen Zimtsäure und durch den Nachweis, daß die gebildete synthetische Zimtsäure frei von Halogen, Stickstoff und Schwefel ist, wurde, wie schon erwähnt, ein für allemal bewiesen, daß eine Verunreinigung des synthetischen Benzaldehyds durch Benzaldehyde, die die genannten Elemente in Form von Substituenten enthalten, ebenso wie durch Thiophenaldehyd ausgeschlossen ist.

Die von vornherein als Verunreinigung im synthetischen Benzaldehyd denkbaren Aldehyde sind hierdurch beschränkt auf homologe, hydroxylierte und alkyloxylierte Benzaldehyde und auf Aldehyde mit anderen, dem Phenyl ähnlichen Kernen, ausgenommen den Thiophenkern.

Um festzustellen, ob etwa einer dieser Aldehyde in dem synthetischen Benzaldehyd enthalten ist, könnte man daran denken, aus den genannten Aldehyden die Zimtsäuren darzustellen und zu untersuchen, ob eine von diesen mit Storaxzimtsäure gemischt, vollkommen mit der synthetischen und der Heterozimtsäure übereinstimmende Mischungen gibt, die sich sowohl bei der Trennung, als auch bei der krystallographischen Untersuchung, sowohl der Mischungen selbst, als der daraus entstehenden Dibromide genau so verhalten, wie die synthetische resp. Heterozimtsäure und deren Dibromide.

Über Versuche in dieser Richtung wird in einer der nächsten Abhandlungen berichtet werden.

Der sicherste Aufschluß über die Natur des im synthetischen Benzaldehyd enthaltenen Begleitaldehyds und damit auch der in der synthetischen Zimtsäure enthaltenen Begleitsäure ist durch Umwandlungsversuche des Storaxbenzaldehyds einerseits und der Storaxzimtsäure andererseits, in synthetischen Benzaldehyd bzw. in synthetischer Zimtsäure zu erwarten.

Gelingt es, aus Storaxbenzaldehyd unter bekannten, leicht zu beurteilenden Bedingungen synthetischen oder Heterobenzaldehyd darzustellen und dadurch einen genetischen Zusammen-

hang von Storaxbenzaldehyd und dem unbekannten Begleitaldehyd zu beweisen, so ist dadurch die Abwesenheit irgendwelcher Aldehyde mit einem von dem Phenyl verschiedenen Radikal bewiesen, da eine genetische Beziehung von Benzaldehyd zu Aldehyden mit einem anderen Kern unmöglich ist; als Verunreinigung bleiben nur mehr substituierte Benzaldehyde denkbar.

Aus den Bedingungen, unter denen der Übergang vom Storaxbenzaldehyd in synthetischen erfolgt, muß sich aber ein sicherer Schluß ziehen lassen, ob und was für ein Radikal unter den festgesetzten Unwandlungsbedingungen in den Benzaldehyd eingetreten sein kann.

Die Tatsache, daß der natürliche Benzaldehyd vor der Blausäureentziehung vorwiegend aus Storaxbenzaldehyd, nach der Entblausäuerung aber aus synthetischem Benzaldehyd besteht, wird nur durch die Annahme verständlich, daß das Verfahren der Entblausäuerung eine Umwandlung von Storaxbenzaldehyd in synthetischen Benzaldehyd, d. h. in das Gemisch von Storaxbenzaldehyd und Heterobenzaldehyd bewirkt.

Daß diese Wirkung der alkalisch reagierenden Kalkmilch als umlagerndem Agens zuzuschreiben ist, ergibt sich aus den in der nächsten Abhandlung mitgeteilten Versuchen, bei denen auf anderem Wege gewonnener blausäurefreier Storaxbenzaldehyd durch alkalische Reagenzien in synthetischen Benzaldehyd umgewandelt werden konnte.

Damit ist also der gesuchte genetische Zusammenhang zwischen Storaxbenzaldehyd und dem Aldehyd, der bei der Kondensation die neben Storaxzimtsäure in der synthetischen Zimtsäure enthaltene Begleitsäure liefert, festgestellt.

Die Ausführung der Entblausäuerung geschieht nach der Vorschrift der Firma Schimmel, indem man das Öl mit Kalkmilch und Eisenvitriol durchschüttelt, wobei die Blausäure in Form von unlöslichem Calciumferrocyanid niedergeschlagen wird, der zurückbleibende Benzaldehyd wird mit Wasserdampf rektifiziert.

Diese Behandlung des natürlichen blausäurehaltigen Benzaldehyds hat, wie eben gezeigt, nicht nur die Entfernung der Blausäure zur Folge, sondern sie bewirkt auch die Umwandlung von Storax- in synthetischen resp. Heterobenzaldehyd, und es fragt sich nun, ob und welche Veränderung des Benzaldehydmoleküls in seiner Zusammensetzung, insonderheit die Bildung

welches substituierten Benzaldehyds, unter den genannten Entblausäuerungsbedingungen denkbar ist.

Es braucht wohl kaum mehr darauf hingewiesen zu werden, daß sich unter den genannten Bedingungen aus dem Phenylrest des Storaxbenzaldehyds ein anderer zusammengesetzter Rest nicht bilden kann, ebensowenig aber ist die Entstehung von halogen-, stickstoff- oder schwefelhaltigen Benzaldehyden und die Entstehung von alkylierten oder alkyloxylierten Benzaldehyden bei dem Übergang von Storaxbenzaldehyd in synthetischen resp. Heterobenzaldehyd denkbar.

Da außer den genannten Substituenten nur noch die Hydroxylgruppe in Frage kommen könnte, so war es nötig, die an und für sich höchst unwahrscheinliche Annahme der Bildung von Oxyaldehyden bei der Umwandlung von Storax- in Heterobenzaldehyd zu widerlegen.

Wie bekannt, geht Benzaldehyd bei Gegenwart von Alkali sehr leicht in Benzoesäure über, was bei der überaus großen Oxydierbarkeit des Wasserstoffatoms der Aldehydgruppe nicht erstaunlich ist.

Im Hinblick auf diese große Empfindlichkeit des Wasserstoffs der Aldehydgruppe kann man aber kaum annehmen, daß bei einigen Benzaldehydmolekülen der leicht oxydable Aldehydwasserstoff der Oxydation entgehen und dafür einer der schwer oxydablen Benzolwasserstoffe zu Hydroxyl oxydiert werden könnte.

Diese höchst unwahrscheinliche Annahme muß man aber machen, wenn man daran denkt, es könnten sich bei der Entblausäuerung Oxybenzaldehyde bilden.

Eingehende Versuche haben gelehrt, daß die Oxybenzaldehyde, in Natronlauge gelöst, bei darauffolgender Wasserdampfdestillation nicht mit übergehen, sondern wie die organischen Säuren von dem Alkali vollständig zurückgehalten werden. Zur Trennung eines Gemisches von Benzaldehyd und einem Oxybenzaldehyd braucht man daher nur unter Zusatz von verdünnter Natronlauge mit Wasserdampf zu destillieren, um das Gemisch zu trennen.

Würde nun die bei der Entblausäuerung stattgehabte Veränderung des Storaxbenzaldehyd auf die partielle Bildung eines Oxyaldehyds zurückgeführt werden können, so müßte der ent-

standene Oxyaldehyd bei der darauffolgenden Wasserdampfdestillation im Destillationsgefäß zurückbleiben, der übergehende Aldehyd aber aus reinem Storaxbenzaldehyd bestehen. Wie gezeigt, besitzt aber der entblausäuerte und darauf von dem Kalk durch Wasserdampfdestillation getrennte Aldehyd die Eigenschaften des synthetischen Benzaldehyds, die auch durch wiederholte Wasserdampfdestillation bei Gegenwart von Natronlauge nicht mehr geändert werden.

Eine Verunreinigung des mit dem reinen synthetischen Benzaldehyd identischen natürlichen blausäurefreien Bittermandelöls durch Oxyaldehyde ist also ausgeschlossen.

Ein weiterer Beweis für die Abwesenheit eines Oxyaldehyds in dem synthetische Zimtsäure liefernden natürlichen, entblausäuerten Benzaldehyd wurde durch die Herstellung von Mischungen von o-, m-, p-Oxyzimtsäure mit Storaxzimtsäure erbracht. Unter der Voraussetzung, daß der synthetische Benzaldehyd durch einen Oxybenzaldehyd verunreinigt wäre, müßte die synthetische Zimtsäure ein Gemisch von einer Oxyzimtsäure mit Storaxzimtsäure sein. Die Untersuchung ergab aber, daß sich aus den drei Oxyzimtsäuren mit Storaxsäure keine mit der synthetischen Zimtsäure übereinstimmende Mischung erhalten ließ.

Somit ist es gelungen, auch die Abwesenheit von Oxyaldehyden in dem bei der Umwandlung durch Alkali aus Storaxbenzaldehyd entstehenden synthetischen Benzaldehyd zu beweisen; es sind nunmehr alle überhaupt als Verunreinigungen denkbaren Aldehyde anderer Zusammensetzung im synthetischen Benzaldehyd ausgeschlossen und damit die Baeyersche Annahme bewiesen. Der synthetische Aldehyd muß vielmehr trotz der veränderten Eigenschaften durchweg aus Molekülen gleicher Zusammensetzung und gleicher Konstitution bestehen; das gleiche gilt für die daraus gewonnene synthetische Zimtsäure.

e) Umwandlung der Storaxzimtsäure in synthetische und damit in Heterozimtsäure unter Bedingungen, unter denen eine Veränderung in der Zusammensetzung des Moleküls völlig ausgeschlossen ist.

Durch den Befund, daß der direkt aus der Pflanze ge wonnene, fast vollständig aus Storaxbenzaldehyd bestehende

Benzaldehyd durch die Behandlung mit dem alkalischen Entblausäuerungsmittel in synthetischen Benzaldehyd übergeht, werden die bei der Oxydation von Storaxzimtsäure mit Permanganat erhaltenen und früher bereits erwähnten Versuchsergebnisse ohne weiteres klar.

Der der Storaxzimtsäure entsprechende Storaxbenzaldehyd kann nicht nur dadurch charakterisiert sein, daß er bei der Kondensation Storaxzimtsäure lieferte, sondern man hat zu erwarten, daß er auch umgekehrt bei der Spaltung der Storaxzimtsäure durch Oxydation zurückgebildet wird.

Bei einigen Versuchen, bei denen die Wirkung des bei der Oxydation mit Permanganat gleichzeitig entstehenden Alkalis möglichst abgeschwächt war, wurde auch in der Tat Benzaldehyd erhalten, der bei der Kondensation wieder in Storaxzimtsäure überging. Bei allen anderen Versuchen aber, bei denen die Storaxzimtsäure in alkalischer Lösung unter Zufließenlassen von Permanganat und unter gleichzeitiger Wasserdampfdestillation oxydiert wurde, entstand Benzaldehyd, bei dessen Wiederkondensation typische synethische Zimtsäure gebildet wurde.

Genau wie der blausäurehaltige Storaxbenzaldehyd wird also auch der aus der einheitlichen Storaxzimtsäure entstehende Storaxbenzaldehyd durch die Wirkung des Alkali, vielleicht auch noch durch die bei der Oxydation stattfindenden Erschütterung des Moleküls in synthetischen Benzaldehyd umgewandelt, ohne daß bei dieser Umwandlung, die 8mal wiederholt wurde, an eine Veränderung in der Zusammensetzung des Benzaldehydmoleküls gedacht werden könnte.

Damit ist also der eingangs erwähnte Weg gefunden, um Storaxzimtsäure unter Bedingungen, unter denen jegliche Zusammensetzungsänderung der Moleküle ausgeschlossen ist, in synthetische resp. Heterozimtsäure überzuführen.

Dieser Beweis für die Strukturgleichheit der im synthetischen Benzaldehyd und der synthetischen Zimtsäure enthaltenen Komponenten ließ sich unabhängig von Analysenresultaten und unabhängig von der Frage, ob die Heterozimtsäure nicht mehr weiter trennbar ist, erbringen.

Die einzige Voraussetzung bei der Beweisführung war die Tatsache, von deren Richtigkeit sich jeder leicht überzeugen

kann, daß sich die aus dem durch Alkali umgewandelten Storaxbenzaldehyd entstehende synthetische Zimtsäure durch Fällung mit Salzsäure, also auf chemischem Wege, in Fraktionen von verschiedenen Eigenschaften trennen läßt.

Die hier besprochenen Versuchsergebnisse beziehen sich zunächst auf den natürlichen entblausäuerten Benzaldehyd und die daraus entstehende synthetische und Heterozimtsäure. Da aber, wie oben gezeigt, die von diesem Aldehyd ausgehend gewonnene Heterozimtsäure ein Dibromid gibt, das identisch ist mit dem Heterodibromid aus künstlichem Benzaldehyd, so hat man anzunehmen, daß auch der künstliche Benzaldehyd dieselben Bestandteile, Storax- und Heterobenzaldehyd, enthält, wie der natürliche blausäurefreie Benzaldehyd.

Bei der experimentellen Bearbeitung der diesen Ausführungen zugrunde liegenden mühevollen Versuche wurde ich von meinen früheren Schülern und Assistenten den Herren Dr. Allen, Barkow, Herz, Martinsen, Hilgendorff und Marx unterstützt. Ich spreche den genannten Herren meinen verbindlichen Dank aus.

Trennung und Umwandlung bei den Benzaldehyden.

Von

E. Erlenmeyer, G. Hilgendorff und Th. Marx.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem bei Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juni 1911.)

Die bisherige Untersuchung hat das sehr bemerkenswerte Resultat ergeben, daß bei der Perkinschen Reaktion aus dem natürlichen Benzaldehyd vor der Entblausäuerung Storaxzimtsäure, nach der Entblausäuerung mit Kalkmilch und Eisenvitriol dagegen synthetische, in einzelnen Fällen Heterozimtsäure entsteht.

In dem Zeitraum von 1907 bis 1910 wurden über 12 Präparate blausäurefreien natürlichen Benzaldehyds der Firma Schimmel, darunter einige Präparate blausäurefreien Kirschlorbeeröls und ein Präparat natürlichen blausäurefreien Benzaldehyds der Firma Gehe und ferner 8 Präparate Oleum amygdalarum amararum rectificatum der Firma Gehe mit einem Blausäuregehalt von ca. 2% untersucht.

Doch nicht nur bei der Kondensation, sondern auch bei der Destillation verhalten sich der natürliche Benzaldehyd vor und der nach der Blausäureentziehung völlig verschieden.

Beinahe die Hälfte des natürlichen blausäurehaltigen Benzaldehyds Gehe destilliert, während die Temperatur langsam ansteigt, unter dem für Benzaldehyd angegebenen Siedepunkt über und gibt kondensiert schönste Storaxzimtsäure.

Aus dem natürlichen Benzaldehyd nach der Blausäureentziehung läßt sich dagegen ebensowenig wie aus dem künstlichen chlorfreien Benzaldehyd auch nicht durch oft wiederholte Destillation eine Fraktion herausdestillieren, die sich zu einheitlicher Storaxzimtsäure kondensieren ließe.

Dagegen ließ sich stets aus dem schwerst flüchtigen Anteil nach sorgfältiger Reinigung und Trennung von Benzoesäure Heterozimtsäure gewinnen.

Es war daraus zu schließen, daß der natürliche Benzaldehyd vor der Entblausäuerung vorzugsweise aus Storaxbenzaldehyd besteht, während der entblausäuerte Benzaldehyd das Gemisch von Storax- und Heterobenzaldehyd vorstellt, das bei der Kondensation zu der synthetischen Zimtsäure führt.

Da sich auch aus dem blausäurehaltigem Benzaldehyd gleichfalls geringe Mengen von Heterobenzaldehyd herausdestillieren lassen, so kann man das verschiedene Verhalten der beiden Benzaldehyde bei der Destillation nur dann verstehen, wenn man annimmt, daß der entblausäuerte Benzaldehyd so viel mehr Heterobenzaldehyd enthält, wie der natürliche blausäurehaltige oder, was das gleiche besagt, so viel ärmer an Storaxbenzaldehyd ist, daß an eine Abtrennung des letzteren erst nach sehr oft wiederholter Fraktionierung gedacht werden könnte.

Daß diese Annahme richtig ist und daß die Abtrennung von Storaxaldehyd aus dem blausäurehaltigen Aldehyd Gehe nicht etwa auf die Anwesenheit der Blausäure zurückzuführen ist, zeigen die folgenden Versuche:

90 g Storaxbenzaldehyd, blausäurefrei, nach dem gleich zu beschreibenden Verfahren aus synthetischem blausäure- und chlorfreien Benzaldehyd durch Trennung gewonnen, wurden mit 10 g synthetischem Benzaldehyd gemischt.

10 g dieses Gemisches kondensiert, ergaben eine Zimtsäure von dem Charakter der aus dem Geheschen Benzaldehyd direkt gewonnenen Zimtsäure: dünne, ausgedehnte Einzelkrystalle von der Umgrenzung der Storaxsäurekrystalle.

Von dieser Mischung wurde aus einem Anschützschen Kolben die Hälfte langsam abdestilliert.

Die daraus gewonnene Zimtsäure gab die typische Krystallisation der einheitlichen Storaxzimtsäure.

Die im Kolben verbleibende zweite Hälfte dagegen gab eine Zimtsäure von dem Dünnenwachstum der synthetischen Zimtsäure, die Lamellen sind, wie stets bei dieser Säure, miteinander verwachsen, zeigen aber teilweise geradlinige Umgrenzung.

Auch aus einem Gemisch von 80 g Storaxbenzaldehyd und 20 g synthetischem Benzaldehyd gab die erste Hälfte abdestilliert noch dünne Storaxzimtsäurekrystalle, die zweite Hälfte dagegen synthetische Zimtsäure.

Es folgt hieraus, daß der synthetische Benzaldehyd, aus dem sich auch durch öftere Fraktionierung kein Storaxbenzaldehyd herausarbeiten läßt, beträchtlich ärmer an Storaxbenzaldehyd sein muß, als die eben beschriebenen Mischungen und der natürliche blausäurehaltige Benzaldehyd Gehe.

1. Neuere Versuche, durch Destillation eine vollständige Trennung von synthetischem Benzaldehyd in Storax- und Heterobenzaldehyd zu bewirken.

Es würde zu weit führen, alle zu diesem Zwecke vergeblich angestellten Versuche ausführlich zu beschreiben, deshalb beschränke ich mich auf eine kurze Mitteilung der wichtigsten bei diesen Versuchen gewonnenen Resultate.

Die früher erwähnten Destillationen des synthetischen Benzaldehyds waren mit relativ kleinen Substanzmengen ausgeführt worden. Deshalb wurden neuerdings noch mehrere Versuche mit größeren Mengen und unter Zuhilfenahme von stark wirkenden Destillationsaufsätzen unternommen.

Bei einem Versuche wurde 1,6 kg garantiert chlorfreier Benzaldehyd der Firma Schimmel mit dem vorzüglich wirkenden Aufsatz von Aschan destilliert und die Fraktionierung über 10 mal wiederholt. Keine der zuerst übergegangenen Fraktionen lieferte heterozimtsäurefreie Storaxzimtsäure, vielmehr gaben alle daraus gewonnenen Zimtsäurepräparate bei der Krystallisation aus Äther noch die für die synthetische Zimtsäure charakteristischen dünnen, verwachsenen Lamellen. Dagegen ließen sich aus den gesammelten Rückständen 30 g eines sehr stechend riechenden Aldehyds herausarbeiten[1]), aus dem bei der Kondensation Heterozimtsäure entstand.

---

[1]) Auch heute bin ich noch nicht in der Lage, bindende Siedepunkte anzugeben. Nach allen Erfahrungen läßt sich aber vermuten, daß Storax- und Heterobenzaldehyd höchstens um 2 bis 3° verschieden sieden, und daß deshalb die Trennung durch Destillation so schwer erfolgt. Von den der Destillation unterworfenen synthetischen Benzaldehyden

0,1123 g gaben 0,3005 CO_2 und 0,0560 H_2O.

	Ber. f. $C_9H_8O_2$	Gef.
C	72,97	72,94
H	5,41	5,54

Zwei weitere Destillationen, die von befreundeter Seite mit 200 g und mit 1 kg garantiert chlorfreiem Benzaldehyd unter Benutzung eines von Marckwald konstruierten Destillationsaufsatzes vorgenommen wurden, gaben kein besseres Resultat.

Auch hier wurde aus dem am schwersten flüchtigen Anteil 5% eines sehr viel stechender riechenden Aldehyds gewonnen, der kondensiert Heterozimtsäure lieferte, während die aus den zuerst übergegangenen Fraktionen erhaltene Zimtsäure fast unverändert den Charakter der synthetischen Zimtsäure besaß.

Endlich hatte die Firma Schimmel die Liebenswürdigkeit, mir von einer Destillation von 3000 kg chlorfreiem Benzaldehyd Proben des zuerst, des in der Mitte und des zuletzt übergegangenen Anteils zur Verfügung zu stellen. Aus allen drei Proben entstand typische synthetische Zimtsäure.

Diese Versuche bestätigen also aufs neue, daß sich aus dem Gemisch von Storax- und Heterobenzaldehyd, das zur synthetischen Zimtsäure führt, zum Unterschied von dem blausäurehaltigen natürlichen Benzaldehyd und den künstlichen Mischungen von Storax- und synthetischem Benzaldehyd im Verhältnis von 90:10 resp. 80:20, Storaxaldehyd nicht abdestilliert werden kann, da der synthetische Benzaldehyd offenbar sehr viel weniger Storaxbenzaldehyd enthält als die genannten Mischungen.

---

gehen zwar große Mengen vollständig konstant über, wie einheitliche Substanzen; die Bildung von synthetischer Zimtsäure aus diesen Fraktionen zeigt aber, daß trotz des konstanten Siedepunktes noch Gemische vorliegen.

Die Angabe von Siedepunkten wird auch dadurch unmöglich, daß man bei der Destillation mit oder ohne Aufsatz um mehrere Grade voneinander abweichende Temperatur beobachtet, und zwar die tiefere bei Verwendung von Aufsätzen. Auch die verwendeten Thermometer variierten, wie die Erfahrung lehrte, häufig bis um 5°. Unter diesen Umständen hat die Angabe von Siedepunkten wenig Wert; es läßt sich nur sagen, daß die Siedepunkte der Destillate in einem Intervall von zirka 6° liegen.

2. Über die Trennung des synthetischen Benzaldehyds auf Grund der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit seiner beiden Komponenten.

Wie bereits früher hervorgehoben wurde, läßt sich aus synthetischem Zimtester durch Destillation relativ leicht ein schwerer flüchtiger Anteil gewinnen, der bei der Verseifung Heterozimtsäure gibt, dagegen bedarf es sehr lange fortgesetzter fraktionierter Destillation, um zu einheitlicher Storaxzimtsäure zu gelangen.

Gerade so verhält sich, wie oben gezeigt, auch der synthetische Benzaldehyd bei der Destillation. Der schwerer flüchtige Heterobenzaldehyd läßt sich relativ leicht, jedoch nicht vollständig herausarbeiten, dagegen niemals völlig einheitlicher Storaxbenzaldehyd.

Die nur sehr schwer durch Destillation ihres Esters trennbare synthetische Zimtsäure läßt sich dagegen, wie die Versuche bei der partiellen Anlagerung von unterchloriger Säure und der fraktionierten Fällung gezeigt haben, leicht auf chemischem Wege trennen. Es lag daher nahe, zu untersuchen, ob sich nicht auch der synthetische Benzaldehyd auf Grund der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit seiner Komponenten trennen läßt.

Eine Beobachtung, die zugunsten dieser Art der Trennung spricht, wurde schon in einer früheren Abhandlung erwähnt. Es wurde nämlich gefunden, daß der bei der Kondensation nicht in Reaktion getretene Benzaldehyd, der fast der Hälfte des angewandten synthetischen Benzaldehyds entspricht, bei der erneuten Kondensation Storaxzimtsäure liefert.

a) Darstellung von Storaxbenzaldehyd durch fraktionierte Kondensation von synthetischem Benzaldehyd mit Natriumacetat und Essigsäureanhydrid.

Man kondensiert nach der gewöhnlichen Vorschrift von Perkin 2 Teile synthetischen Benzaldehyd mit 1 Teil Natriumacetat und 3 Teilen Acetanhydrid bei einer Temperatur von 180° während 8 Stunden. Nach beendigter Reaktion trennt man den unangegriffenen Benzaldehyd durch Wasserdampfdestillation. Der so erhaltene Benzaldehyd gibt wieder kon-

densiert Storaxzimtsäure. Da er jedoch ziemlich viel Essigsäure enthält, so destilliert man ihn zur weiteren Reinigung unter Benutzung eines Aufsatzes.

Von den vielen Destillationen der aus Perkinschen Reaktionen von synthetischem Benzaldehyd zurückgewonnenen Aldehyde seien zwei Beispiele angeführt:

600 g von der synthetischen Zimtsäuredarstellung wiedergewonnener Benzaldehyd, der direkt kondensiert Storaxzimtsäure lieferte, gaben bei der Destillation mit dem Aufsatz von Hahn die folgenden Fraktionen:

Vorlauf 84,5 g,
176 bis 176,8° 62,5 g,
177° 378 g,
Rückstand 71,5 g.

Ein Teil der Fraktion 177° kondensiert gab Storaxzimtsäure.

Bei einem zweiten Versuch wurden 80 g wiedergewonnener Benzaldehyd mit einem Linnemannschen Aufsatz fraktioniert.

Vorlauf 176° 15,5 g essigsäurehaltig,
Fraktion 176 bis 180° 9,5 g,
Fraktion 180 bis 183° 21,5 g,
Rückstand.

Alle drei Fraktionen gaben schöne Storaxzimtsäure.

Es gelingt also auf diesem chemischen Wege leichter aus dem synthetischen Benzaldehyd Storaxaldehyd abzuscheiden, während seine Abtrennung durch Destillation nicht möglich ist.

Beruht diese Gewinnung von Storaxaldehyd tatsächlich auf einer Trennung nach der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit, so war zu erwarten, daß man bei kürzerer Reaktionsdauer bei der Perkinschen Reaktion oder bei Anwendung geringerer Mengen von Acetanhydrid bei der Kondensation zu heterozimtsäurereicheren Mischungen oder zu Heterozimtsäure gelangen könnte.

Ein Präparat von chlorfreiem, synthetischem Benzaldehyd gab bei 4 von 6 Versuchen, in dem gewöhnlichen Mengenverhältnis kondensiert, nach 4 statt 8stündigem Erhitzen Heterozimtsäure, bei den 2 anderen Versuchen synthetische Zimtsäure.

Eine große Reihe anderer Versuche, bei denen sowohl die Reaktionsdauer als die Menge des Acetanhydrids verringert wurde, führte zu wechselnden Resultaten, und es gelang bisher

nicht, Bedingungen zu ermitteln, unter denen es sicher gelingt, aus synthetischem Benzaldehyd bei der Perkinschen Reaktion direkt Heterozimtsäure zu erhalten.

Die Tatsache aber, daß überhaupt bei kürzerer Reaktionsdauer Heterozimtsäure erhalten werden kann, läßt keinen Zweifel, daß auch die im synthetischen Benzaldehyd enthaltenen Komponenten verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit besitzen und beweist, daß der Heterobenzaldehyd rascher reagiert, so daß es verständlich wird, daß der bei der Perkinschen Reaktion von synthetischem Benzaldehyd wiedergewonnene Aldehyd immer aus Storaxbenzaldehyd besteht.

Wie bei den Umwandlungsversuchen gezeigt werden wird, vermag Acetanhydrid als solches beim Erhitzen synthetischen Benzaldehyd in Storaxbenzaldehyd überzuführen, man muß also damit rechnen, daß der bei der Perkinschen Reaktion wiedergewonnene Storaxaldehyd nicht nur durch Trennung, sondern teilweise auch durch Umwandlung entstanden sein kann.

Bemerkenswert ist es, daß bei der partiellen Addition von unterchloriger Säure an synthetische Zimtsäure die der Heteroreihe angehörende Zimtsäure langsamer reagiert, während umgekehrt bei der Kondensation des synthetischen Benzaldehyds der der Storaxreihe angehörende Benzaldehyd langsamer in Reaktion tritt.

b) Trennung des synthetischen Benzaldehyds durch fraktionierte Kondensation mit Hippursäure.

Da bei der Zimtsäurebildung nach Perkin das Reaktionsgemisch während 8 Stunden auf 180° erhitzt werden muß, so erschien es nicht ausgeschlossen, daß durch das hohe und lange Erhitzen des synthetischen Benzaldehyds oder auch der sich bildenden synthetischen Zimtsäure mit Acetanhydrid die Umwandlung nach der Storaxseite hin begünstigt würde.

Um diesen Einfluß auszuschließen, wurde deshalb auch synthetischer Benzaldehyd mit Hippursäure fraktioniert kondensiert.

Die von mir aufgeklärte Kondensation des Benzaldehyds mit Hippursäure, die zu dem gelben Azlacton der Benzoylamidozimtsäure führt, verläuft bekanntlich in sehr kurzer Zeit, und zwar bei Wasserbadtemperatur, so daß bei dieser Konden-

sation die umlagernde Wirkung des Acetanhydrids nach Möglichkeit beschränkt ist.

1. Versuch.

21,2 g Benzaldehyd wurden mit 7,2 g Hippursäure, d. i. 20% der berechneten molekularen Menge, mit 50 g Acetanhydrid und 16 g Natriumacetat, eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Der nicht in Reaktion getretene Benzaldehyd wurde mit Wasserdampf abdestilliert und nach Perkin mit 7,5 g Natriumacetat und 22,5 g Essigsäureanhydrid 8 Stunden kondensiert. Die entstandene Zimtsäure war noch keine vollwertige Storaxzimtsäure, die aus Äther erhaltene Krystallisation bestand noch aus dünnen, aber bereits umgrenzten Krystallen.

2. Versuch.

Bei diesem zweiten Versuche wurden unter sonst gleichen Bedingungen 40% der berechneten molekularen Menge Hippursäure mit der molekularen Menge synthetischen Benzaldehyds kondensiert.

Der nicht in Reaktion getretene Benzaldehyd gab bei der Perkinschen Reaktion einheitliche Storaxzimtsäure.

Die Trennung des synthetischen Benzaldehyds durch fraktionierte Kondensation mit Hippursäure hat also kein wesentlich anderes Resultat geliefert als die Trennungsversuche mit Hilfe der Zimtsäurebildung.

c) Trennung des synthetischen Benzaldehyds durch partielle Anlagerung von Blausäure.

Die voranstehenden Versuche beweisen, daß man aus synthetischem Benzaldehyd durch fraktionierte Kondensation ohne Mühe Storaxbenzaldehyd abscheiden kann, d. h. die durch Destillation nicht erreichbare Trennung gelingt leicht auf chemischem Wege.

Nach dieser Erfahrung konnte man erwarten, daß die beiden Komponenten des synthetischen Benzaldehyds sich auch bei der Addition von Blausäure verschieden verhalten würden, und zwar derart, daß sich der Heterobenzaldehyd rascher mit der Blausäure verbindet, alsdann müßte bei Einwirkung einer unzureichenden Menge Blausäure auf synthetischen Benzaldehyd

der Heterobenzaldehyd verändert werden und Storaxaldehyd unverändert bleiben.

Zur Feststellung des Verhaltens des synthetischen Benzaldehyds zur Blausäure wurden die beiden folgenden Versuche angestellt.

200 g synthetischer Benzaldehyd Schimmel garantiert chlorfrei wurden mit einer Lösung von 9,6 g KCN in 50 g H_2O versetzt und hierzu unter Schütteln tropfenweise 7,3 g konzentrierte Schwefelsäure in 50 ccm H_2O zugegeben. Nach 24 Stunden wurde zur Lösung ausgeschiedenen Kaliumsulfats, mit Wasser verdünnt, der Benzaldehyd getrennt und nach dem Trocknen mit entwässertem Glaubersalz destilliert.

Bei der Destillation wurden 30 g eines tiefer siedenden Anteils erhalten, der bei der Kondensation Zimtsäure gab, die aus Äther in noch recht dünnen, aber scharf umgrenzten Krystallen herauskam.

Bei einem zweiten Versuch wurden 200 g des gleichen Benzaldehyds mit der dreifachen Menge Cyankalium und Schwefelsäure 48 Stunden unter häufigem Schütteln stehengelassen, sodann getrennt und destilliert. Der bei diesem Versuch erhaltene tiefer siedende Anteil betrug 39 g und lieferte Zimtsäure von dem Krystallisationsvermögen der einheitlichen Storaxzimtsäure.

Man sieht daraus, daß durch die Steigerung der Blausäuremenge einheitlicher Storaxaldehyd erhalten werden kann.

Wie aber der folgende Versuch mit einem mir gütigst von der Firma Schimmel überlassenem Präparat von natürlichem Benzaldehyd mit einem Blausäuregehalt von 9,9% zeigt, verhindert ein zu großer Blausäuregehalt die Bildung von Zimtsäure. Ein Teil dieses Aldehyds, nach der gewöhnlichen Methode kondensiert, gab lediglich ein braunes Harz. Zimtsäure konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei der Destillation dieses Benzaldehyds wurden die folgenden Fraktionen erhalten:

150 g destilliert gaben einen bis 160° übergehenden Vorlauf 45 g

Fraktion 1:	160 bis 178°	40 g
„ 2:	178 bis 180°	28 g
„ 3:	180 bis 185°	34 g
Rückstand		ca. 2 g

Fraktion 1 bis 3 gaben alle drei Storaxzimtsäure. Die 45 g Vorlauf wurden nach dem Schütteln mit Sodalösung nochmals fraktioniert.

Vorlauf:	100°	10 g
Fraktion 1:	100 bis 160° . . .	5 g
„ 2:	160 bis 182° . . .	1,4 g

Rückstand nicht bestimmt.

Bei der Kondensation gaben weder Vorlauf noch die beiden Fraktionen Zimtsäure, sondern lediglich Harz.

Die bei der Einwirkung von Blausäure auf synthetischen Benzaldehyd erhaltenen Resultate lassen sich nur durch die Annahme erklären, daß der im synthetischen Benzaldehyd enthaltene Heterobenzaldehyd mit der Blausäure sich zuerst verbindet, wodurch es möglich wird, bei der darauffolgenden Destillation den von der Blausäure nicht angegriffenen Storaxbenzaldehyd abzudestillieren.

Die Tatsache, daß ein Teil aller blausäurehaltigen Benzaldehyde unter dem für Benzaldehyd angegebenen Siedepunkt übergeht, muß auf die gleichzeitige Verflüchtigung von Benzaldehyd und Blausäure zurückgeführt werden.

Mit Hilfe der Methode der partiellen Addition von Blausäure an synthetischen Benzaldehyd und darauffolgendes Abdestillieren eines bestimmten Anteils kann man also, von synthetischem Benzaldehyd ausgehend, Präparate gewinnen, die in ihrem Verhalten mit den natürlichen blausäurehaltigen Bittermandelölen übereinstimmen.

Da sich, wie früher gezeigt wurde, aus den natürlichen Benzaldehyden der Firma Gehe, die ca. 2% Blausäure enthalten, nicht nur Storaxbenzaldehyd, sondern auch synthetischer und Heterobenzaldehyd herausdestillieren läßt, so erscheint es sehr wohl möglich, daß Storax- und Heterobenzaldehyd von der Pflanze in dem nämlichen Mengenverhältnis, in dem sie im synthetischen Benzaldehyd enthalten sind, nebeneinander gebildet werden, daß dann aber durch die Blausäure und die bei der Gewinnung vorgenommene Rektifikation das Mengenverhältnis zugunsten des Storaxbenzaldehyds verschoben wird.

Die Erfahrung, daß sowohl die beiden Komponenten der synthetischen Zimtsäure als die des synthetischen Benzaldehyds, die, wenn auch in anderem Mischungsverhältnis, aus den Pflanzen

gewonnen wurden, durch verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit getrennt werden können, scheint mir für die Biochemie der Pflanze von großer Bedeutung zu sein.

Während das Vorherrschen von Storaxbenzaldehyd im natürlichen, nicht entblausäuerten Benzaldehyd, wie eben gezeigt, erst nachträglich durch die Art der Verarbeitung verursacht sein kann, läßt sich das Vorherrschen der Storaxzimtsäure in allen natürlich vorkommenden Zimtsäureestern am leichtesten durch die Annahme erklären, daß in der Pflanze selbst vielleicht durch die verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit eine Selektion zugunsten der Storaxzimtsäure stattfindet.

Ist diese Annahme richtig, so kann es nicht zweifelhaft sein, daß die der Storax- und Heteroreihe angehörenden aromatischen Verbindungen in der Pflanze verschiedene Rollen spielen.

3. Umwandlungsversuche bei den Benzaldehyden.

Nächst den Trennungsversuchen, die beweisen, daß der natürliche blausäurefreie Benzaldehyd, der ebenso wie der künstliche chlorfreie bei der Perkinschen Reaktion zur synthetischen Zimtsäure führt, kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemisch von zwei Aldehyden, dem Storax- und Heterobenzaldehyd ist, sind die Umwandlungsversuche von der größten Wichtigkeit, da durch sie gezeigt werden konnte, daß die Bestandteile des die synthetische Zimtsäure liefernden Aldehyds, gleichviel ob die bisher erzielten Trennungen vollständig waren oder nicht, eine verschiedene Zusammensetzung und Struktur nicht besitzen können.

Durch die so häufig durch Trennung vorgenommene Darstellung von Storaxbenzaldehyd, der, wie sein Name zum Ausdruck bringen soll, bei der Perkinschen Reaktion direkt Storaxzimtsäure liefert, ist einwandfrei bewiesen worden, daß die in der synthetischen Zimtsäure neben Storaxzimtsäure vorhandene Begleitsäure nicht etwa erst bei der Kondensation entsteht, da sonst auch bei der Kondensation des Storaxbenzaldehyds sich synthetische Zimtsäure bilden müßte.

Es bleibt daher nur der durch die vorhergehenden Versuche bestätigte Schluß möglich, daß im, synthetische Zimtsäure liefernden, Benzaldehyd noch ein zweiter isomerer Benz-

aldehyd enthalten ist, den ich Heterobenzaldehyd genannt habe, da aus ihm bei der Kondensation Heterozimtsäure entsteht.

Da sich mit Leichtigkeit ein bei der Kondensation direkt Storaxzimtsäure liefernder Benzaldehyd darstellen läßt, so ist es selbstverständlich, daß der durch Ozydation aus reiner Storaxzimtsäure entstehende Benzaldehyd aus Storaxbenzaldehyd bestehen und bei darauffolgender Kondensation Storaxzimtsäure zurückliefern mußte.

Da jedoch, wie gefunden wurde, der bei der Oxydation von reiner Storaxzimtsäure in alkalischer Lösung gebildete Benzaldehyd bei der erneuten Kondensation zu synthetischer Zimtsäure führt, so muß angenommen werden, daß der unter den Bedingungen der Abscheidung primär entstehende Benzaldehyd ohne Strukturänderung in seinem Wesen verändert wird. Da ja, wie gezeigt, der natürliche Storaxbenzaldehyd bei der Behandlung mit dem alkalischen Entblausäuerungsmittel die gleiche Umwandlung in synthetischen Benzaldehyd erfährt, so wird man nicht fehlgehen mit der Annahme, daß die Umwandlung durch alkalische Agenzien bewirkt wird.

Die im folgenden mitgeteilten Versuche wurden angestellt, um die Richtigkeit dieser Annahme zu prüfen und das Wesen der Umwandlung näher kennen zu lernen.

a) Umwandlung von Storaxbenzaldehyd in synthetischen und Heterobenzaldehyd durch alkalische Agenzien.

Da die Umwandlung von natürlichem blausäurehaltigen Benzaldehyd in synthetischen Benzaldehyd durch die Entblausäuerung aus der vergleichenden Untersuchung der käuflichen, natürlichen blausäurehaltigen einerseits und blausäurefreien Benzaldehyde andererseits gefolgert war, so war es von Wichtigkeit, sich auch durch eigene Versuche von der Umwandlung zu überzeugen.

Zu dem Zweck wurde aus dem natürlichen blausäurehaltigen Benzaldehyd der Firma Gehe der Anteil, der bei der Kondensation einheitliche Storaxzimtsäure gibt, herausdestilliert, sodann mit Kalkmilch und Eisenvitriol entblausäuert. Bei der Kondensation entstand, wie zu erwarten war, synthetische Zimtsäure.

Um festzustellen, ob die Kalkmilch allein die Umwandlung hervorbringt, wurde bei einem zweiten Versuch der gleiche Benzaldehyd längere Zeit mit Kalkmilch allein geschüttelt und der Aldehyd nach dem Abdestillieren mit Wasserdampf, wobei die gebildete Benzoesäure vom Kalk zurückgehalten wird, kondensiert. Die bei der Kondensation entstandene Zimtsäure besaß den Charakter der Heterozimtsäure.

Bei einem dritten Versuche endlich wurde derselbe Aldehyd, in Alkohol gelöst, in 5%ige Sodalösung fließen gelassen unter gleichzeitiger Wasserdampfdestillation. Der übergegangene Benzaldehyd wurde getrennt und derselben Behandlung nochmals unterworfen. Bei der Kondensation lieferte er nunmehr typische synthetische Zimtsäure.

Aus den beiden letzten Versuchen ergibt sich, daß die Umwandlung den alkalischen Agenzien zuzuschreiben ist.

Um etwas über die Rolle, die die Zeit bei der Entblausäuerung spielt, zu erfahren, bat ich die Firma Schimmel, Proben natürlichen blausäurehaltigen Benzaldehyds verschieden lange dem Gemisch von Kalkmilch und Ferrosulfat auszusetzen. Die Firma entsprach in liebenswürdigster Weise meiner Bitte und sandte Proben, die 5 Stunden, 22 Stunden und 8 Tage mit dem Gemisch behandelt worden waren, und eine Probe, die direkt nach der Blausäureentziehung destilliert worden war. Die 8 Tage behandelte Probe gab typische Heterozimtsäure. Die anderen Proben gaben teils synthetische, teils Heterozimtsäure. Ein sicherer Schluß bezüglich der Zeitdauer, die für die Umwandlung in synthetischen resp. Heterobenzaldehyd notwendig ist, ließ sich nicht ziehen.

Bei den folgenden Versuchen wurde ein durch fraktionierte Kondensation erhaltenes Präparat von Storaxbenzaldehyd der Einwirkung von Alkali unterworfen.

Bei dem einen Versuche wurde der Storaxbenzaldehyd zuerst mit 2%iger Kalilauge längere Zeit unter häufigem Umschütteln auf dem Wasserbad erwärmt und sodann mit Wasserdampf abdestilliert.

Bei dem zweiten Versuche wurde der gleiche Storaxbenzaldehyd mit 1%iger Natronlauge gemischt und sogleich mit Wasserdampf destilliert.

In beiden Fällen gab der zurückgewonnene Benzaldehyd synthetische Zimtsäure.

In anderen Fällen dagegen wurde der Storaxbenzaldehyd durch die Behandlung mit Alkali kaum oder gar nicht verändert, so daß wir noch nicht in der Lage sind, ganz genaue Bedingungen für die Umwandlung anzugeben.

Regelmäßig trat aber, wie erwähnt, die Umwandlung von Strorax- in synthetischen Benzaldehyd bei der Oxydation von Storaxzimtsäure mit Permanganat in alkalischer Lösung ein und es ist wahrscheinlich, daß der Storaxbenzaldehyd in statu nascendi leichter angegriffen wird, als in Form der Öltropfen des fertigen Storaxbenzaldehyds.

b) Umwandlung von Storaxbenzaldehyd in synthetischen Benzaldehyd durch Erhitzen mit Platinasbest.

Wie in der ersten Abhandlung bewiesen wurde, kommt bei dem Übergang von Storax- in Heterobenzaldehyd durch Einwirkung von Alkali eine Oxydationswirkung nicht in Betracht. Man kann daher nur annehmen, daß die Wirkung des Alkalis bei dieser Umwandlung eine rein katalytische ist.

Deshalb war es von Interesse zu untersuchen, in welcher Weise ausgesprochen katalytisch wirkende Körper, wie z. B. Platinasbest, den Storaxbenzaldehyd beeinflussen würden.

Bei einem Versuche wurden 100 g durch Trennung gewonnener Storaxbenzaldehyd mit 1 g Platinasbest zunächst 14 Stunden lang erhitzt. Zur Vermeidung der Oxydation empfiehlt es sich, das Erhitzen in einer Kohlensäureatmosphäre vorzunehmen. Nach Entfernung der Benzoesäure durch Schütteln mit verdünnter Sodalösung gab eine Probe des Aldehyds bei der Kondensation Zimtsäure von dem ausgesprochenen Charakter der synthetischen.

Nach weiterem 14stündigen Erhitzen des nicht zur Kondensation verwandten Benzaldehyds mit Platinasbest wurde wieder eine Probe kondensiert und gleichfalls synthetische Zimtsäure erhalten.

Der nicht kondensierte Rest des Benzaldehyds wurde weitere 32 Stunden mit Platinasbest erhitzt.

Dieser im ganzen 60 Stunden mit Platinasbest erhitzte Benzaldehyd gab eine, nach der Krystallisation zu urteilen, an Heterozimtsäure reichere synthetische Zimtsäure.

Bei einem zweiten Versuch waren 50 g Storaxbenzaldehyd nach 30stündigem Erhitzen mit Platinasbest noch nicht wesentlich verändert, wie die aus einer Probe gewonnene Zimtsäure ergab.

Nach weiterem 30stündigen Erhitzen aber ergab der nunmehr 60 Stunden mit Platinasbest erhitzte Storaxbenzaldehyd bei der Kondensation wieder eine an Heterozimtsäure reichere synthetische Zimtsäure.

Bei 9 anderen Versuchen, bei denen geringere Mengen Storaxbenzaldehyd mit geringeren Mengen Platinasbest kürzere Zeit erhitzt worden waren, wurde bei darauffolgender Kondensation in 4 Fällen Storaxzimtsäure, in 5 Fällen dagegen synthetische Zimtsäure erhalten.

Aus den Versuchen scheint hervorzugehen, daß besonders die Dauer des Erhitzens für die Umwandlung von Bedeutung ist.

Da bei dem Erhitzen des Benzaldehyds mit Platinasbest an eine struktuelle Veränderung des Benzaldehydmoleküls nicht zu denken ist, so bietet diese Umwandlung einen weiteren Beweis für die Strukturgleichheit der Komponenten des synthetischen Benzaldehyds.

c) Versuche, synthetischen Benzaldehyd in Heterobenzaldehyd umzuwandeln.

Wie schon erwähnt, hatten einige der von Schimmel bezogenen natürlichen blausäurefreien Benzaldehyde, besonders solche, die dem Entblausäuerungsgemisch längere Zeit ausgesetzt waren, Heterozimtsäure ergeben. Da, wie nachgewiesen wurde, der natürliche Benzaldehyd vor der Entblausäuerung fast vollständig aus Storaxbenzaldehyd besteht, so geht daraus hervor, daß es unter bestimmten Bedingungen, die aber im einzelnen bisher noch nicht ermittelt werden konnten, möglich ist, vom Storaxbenzaldehyd zum Heterobenzaldehyd zu gelangen.

Immerhin sind diese Fälle in der Minderzahl. Meistens bleibt die Umwandlung bei der Bildung des synthetischen Benzaldehyds stehen.

Diese Erfahrung läßt vermuten, daß das im synthetischen Benzaldehyd vorliegende Mischungsverhältnis einem recht konstanten Gleichgewichtszustand entspricht. Dasselbe gilt natürlich auch für die synthetische Zimtsäure. Die Tatsache der genauen Übereinstimmung des von Bodewig vor Jahren und des neuerdings von Richarz gemessenen Dibromids der synthetischen Zimtsäure läßt keinen Zweifel darüber, daß das Mischungsverhältnis der beiden Komponenten weder beim Umkrystallisieren der synthetischen Zimtsäure, noch bei der Bildung und der Krystallisation des Dibromids wesentlich verschoben wird.

In den Fällen, bei denen die Bildung von Heterobenzaldehyd durch Umwandlung aus Storaxbenzaldehyd festgestellt wurde, muß man annehmen, daß intermediär synthetischer Benzaldehyd gebildet wird, und es war daher von Interesse, zu versuchen, den synthetischen Benzaldehyd durch umlagernde Agenzien in Heterobenzaldehyd zu verwandeln.

Wenn bei der Umwandlung des Storaxbenzaldehyds eine Veränderung in der Zusammensetzung des Moleküls stattfände, so sollte man erwarten, daß man schließlich die Gesamtmenge des Benzaldehyds in den anders zusammengesetzten Benzaldehyd überführen könnte, eine Veränderung, die dann natürlich auch auf analytischem Wege sofort bemerkt werden müßte.

Bei einer großen Reihe von Versuchen wurde synthetischer Benzaldehyd mit verschiedenen Mengen von Kalkmilch oder mit Kalkmilch und Eisenvitriol, oder aber mit Natronlauge verschieden lange behandelt und der Benzaldehyd hierauf kondensiert. In allen Fällen wurde synthetische Zimtsäure erhalten. Diese Versuche bestätigen die oben gemachte Annahme, daß sich die beiden Komponenten des synthetischen Benzaldehyds in einem Gleichgewichtszustand befinden, der sich nicht leicht zugunsten des Heterobenzaldehyds verschieben läßt.

d) Versuche, synthetischen Benzaldehyd in Storaxbenzaldehyd umzuwandeln.

In einer früheren Abhandlung wurde bereits mitgeteilt, daß Benzaldehyd, der nach der Vorschrift von Perkin kondensiert synthetische Zimtsäure gibt, bei Gegenwart von Kupfer oder Kupferacetat zu typischer Storaxzimtsäure führt.

Neuerdings gelang es noch auf einem anderen Wege, ausgehend von synthetischem Benzaldehyd, direkt Storaxzimtsäure zu erhalten.

20 g synthetischer Benzaldehyd und 30 g Acetanhydrid, d. i. das bei der Perkinschen Reaktion verwendete Mengenverhältnis, wurden 10 Stunden im Einschlußrohr auf 170° erhitzt, wobei sich das Gemisch braun färbte. Setzt man nun zu diesem Gemisch 10 g Natriumacetat und kondensiert in der gewöhnlichen Weise während 8 Stunden, so erhält man Zimtsäure von dem Charakter der Storaxzimtsäure.

Da bei Wiederholung der Versuche das gleiche Resultat erhalten wurde, so ist zu schließen, daß der im synthetischen Benzaldehyd neben Storaxbenzaldehyd, vorhandene Begleitaldehyd, der Heterobenzaldehyd durch Erhitzen mit Acetanhydrid in Storaxbenzaldehyd übergeht. Über weitere Umwandlungsversuche mit synthetischem Benzaldehyd soll später berichtet werden.

Schluß.

Die mitgeteilten Versuche über Trennung des synthetischen Benzaldehyds lassen erkennen, daß zwar durch öftere Destillation des synthetischen Benzaldehyds teilweise Verschiebungen im Mischungsverhältnis der beiden Komponenten erreicht werden, daß es aber ganz ausgeschlossen ist, auf die Destillation eine praktisch ausführbare Trennungsmethode zu begründen. Anders und günstiger liegen die Verhältnisse bei der auf der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit basierten Trennung.

Diese Methode hat aber naturgemäß den Nachteil, daß man nur die eine Komponente gewinnen kann, da die andere durch die Reaktion verändert wird.

Bei dieser Sachlage hoffte ich Bedingungen ausfindig zu machen, unter denen es gelingt, die einzelnen Modifikationen nach Belieben ineinander zu verwandeln.

Wie die mitgeteilten Versuche zeigen, ist es auch gelungen, im allgemeinen Bedingungen aufzufinden, unter denen die Umwandlungen stattfinden, doch ließen sich die Bedingungen im Speziellen noch nicht so ausarbeiten, daß es möglich wäre, genaue Rezepte für die Ausführung der einzelnen Umwandlungen anzugeben.

Neben den für gewöhnlich zur Unterscheidung organischer Substanzen dienenden Eigenschaften, wie Schmelzpunkt und Löslichkeit, können, wie die voranstehende Untersuchung gezeigt hat, auch noch andere Unterschiede im Verhalten unter bestimmten gleichen Bedingungen als Unterscheidungsmerkmale benutzt werden, wie in dem vorliegenden Falle das Krystallisationsvermögen aus Äther.

In der gewöhnlichen Weise untersucht, mußten Storax-, synthetische und auch Heterozimtsäure für identisch gelten, um so mehr aber wird man erstaunen, wenn man die genannten Säuren unter gleichen Bedingungen nebeneinander aus Äther krystallisieren läßt.

Der Unterschied, der bei der Krystallisation der drei Säuren aus Äther in Erscheinung tritt, ist so in die Augen springend, daß er jedem Laien sofort auffällt.

Der Umstand, daß er sich durch die gewöhnlich angewandte Reinigungsmethode des Umkrystallisierens nicht zum Verschwinden bringen läßt, gab mir die Veranlassung, die Ursache dieser Verschiedenheit zu erforschen. Die bisher und die in den beiden folgenden Abhandlungen mitgeteilten Versuche führen übereinstimmend zu dem Resultat, daß die Verschiedenheiten bei den Zimtsäuren und den Benzaldehyden auf den Benzolkern zurückzuführen sind. Man muß demnach mit v. Baeyer annehmen, daß der Benzolkern in wechselseitig ineinander überführbaren Zuständen verschiedener Stabilität existieren kann.

Bei den Zimtsäuren selbst äußern sich, wie festgestellt, die wahrnehmbaren Verschiedenheiten sehr auffallend bei der Krystallisation. Bei den zugehörigen Dibromiden dagegen läßt sich ein Unterschied nur wahrnehmen, wenn man die Krystallisationen nebeneinander sieht. Dagegen treten die Unterschiede klar unh deutlich hervor bei der Bestimmung der krystallographischen Konstanten.

Weitere Unterschiede dieser Modifikationen ließen sich bezüglich der Flüchtigkteit und des Geruchs feststellen.

So lassen sich die Ester der Zimtsäure und die Benzaldehyde bei einiger Erfahrung auf diesem Gebiet durch den Geruch unterscheiden. Von den beiden Benzaldehyden besitzt der Heterobenzaldehyd einen sehr viel stechenderen Geruch, als der milde riechende Storaxbenzaldehyd.

Der bei weitem wichtigste, durch die Untersuchung aufgefundene Unterschied besteht aber in der Verschiedenheit der Reaktionsgeschwindigkeit.

Dieser chemische Unterschied tritt bei allen Trennungen durch chemische Reaktion in Erscheinung.

Einen anderen chemischen Unterschied als wie die Bildung verschiedener Derivate und verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit kann man, meines Erachtens, bei strukturgleichen Isomeren überhaupt nicht erwarten.

Alle diese strukturgleichen Modifikationen, die sich durch Verschiedenheit in der Reaktionsgeschwindigkeit trennen lassen, müssen durch einen verschiedenen Energieinhalt ausgezeichnet sein.

Die Auffindung der beschriebenen Eigenschaftsunterschiede bei den Zimtsäuren und Benzaldehyden veranlaßte uns, auch bei anderen aromatischen Verbindungen auf ähnliche Unterschiede zu achten.

So wurde beobachtet, daß wie bei dem synthetischen Benzaldehyd, so auch bei dem reinsten Benzol die leichter und schwerer flüchtigen Anteile deutliche Geruchsunterschiede zeigen, besonders wenn die Verflüchtigung bei vermindertem Druck vorgenommen wird.

An eine vollständige Trennung des Benzols durch Destillation wird ebensowenig wie bei den Benzaldehyden zu denken sein. Ferner wurde gefunden, daß Stilben, nach dem kürzlich beschriebenen[1]) Verfahren aus synthetischem Zimtester dargestellt, in seinem Krystallisationsvermögen der synthetischen Zimtsäure gleicht, indem es sich in dünnen, nicht umgrenzten Blättchen abscheidet, während das aus Storaxzimtsäure entstandene Stilben in gut ausgebildeten, ziemlich dicken Tafeln vom Habitus der Storaxzimtsäure erhalten wurde.

Bei der Schwierigkeit der Trennung derart nahe verwandter Modifikationen und bei dem Mangel leicht feststellbarer Eigenschaftsunterschiede dürfte es in vielen Fällen sehr viel schwerer sein als bei den Zimtsäuren, die Unterschiede aufzufinden.

[1]) Liebigs Annalen 247, 372, 1910.

Über das Verhalten bestimmter Mischungen von Storaxzimtsäure und substituierten Zimtsäuren.

Von

E. Erlenmeyer und G. Hilgendorff.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem bei Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juni 1911.)

Als durch die Untersuchung der einwandfreie Beweis geliefert worden war, daß die synthetische Zimtsäure entweder ein Gemisch von Storaxzimtsäure und einer zweiten Modifikation der gleichen Zusammensetzung oder aber eine durch eine substituierte Zimtsäure verunreinigte Storaxzimtsäure vorstellt, und daß somit alle anderen Substanzen als Bestandteile der synthetischen nicht mehr in Frage kommen, wurde einerseits versucht, die Storaxzimtsäure in synthetische resp. Heterozimtsäure umzuwandeln. Die leicht erfolgende Umwandlung von Storax- in synthetische Zimtsäure führte, wie in der ersten Abhandlung gezeigt wurde, zum einwandfreien Nachweis der gleichen Struktur der Komponenten der synthetischen Zimtsäure, da eine Veränderung in der Zusammensetzung unter den Umwandlungsbedingungen ausgeschlossen ist. Andererseits wurden Untersuchungen darüber angestellt, in welcher Weise substituierte Zimtsäuren das Krystallisationsvermögen der Storaxzimtsäure aus Äther beeinflussen.

Während Storaxzimtsäurekrystalle selbst noch bei Krystallisation von gleichen Teilen Storax und Benzoesäure aus Äther in der gleichzeitig abgeschiedenen Benzoesäure eingebettet beobachtet werden können, hat es sich gezeigt, daß einige substituierte Zimtsäuren zum Unterschied von der Benzoesäure, und bereits in recht geringer Menge, das ausgezeichnete Kry-

stallisationsvermögen beträchtlich beeinflussen, andere substituierte Zimtsäuren dagegen fast gar nicht.

Zur Untersuchung gelangten 0,1 und 1%ige Mischungen. Höherprozentige Mischungen kamen nicht in Frage, da anzunehmen war, daß sich die Anwesenheit größerer Mengen der anders zusammengesetzten substituierten Zimtsäuren durch die Analyse, wenn nicht der synthetischen, so doch sicher der Heterozimtsäure, hätte verraten müssen. Ausgenommen sind allerdings die Methylzimtsäuren, die, bis 20% der Zimtsäure beigemengt, durch die Analyse nicht bemerkt werden können.

Im folgenden wird zuerst eine Beschreibung des Krystallisationsvermögens der Mischungen aus ätherischer Lösung gegeben. Da bei der ganzen Untersuchung das Krystallisationsvermögen aus Äther in erster Linie als Unterscheidungsmerkmal benutzt wurde, so sind die Krystallisationen der Mischungen für die Vergleichung mit den Krystallisationen der synthetischen und der Heterozimtsäure ausschlaggebend.

Die Krystallisationsproben wurden immer in derselben Weise, und zwar wie folgt vorgenommen: 1 g der zu prüfenden Substanz wird in 15 bis 20 ccm Äther gelöst und die nötigenfalls filtrierte Lösung in einem ca. 5,5 cm hohen Becherglas von ca. 3,5 cm Durchmesser bei Zimmertemperatur zur Verdunstung gestellt. Nach einigen Stunden ist der Äther verdunstet und die Substanz in der für sie charakteristischen Form am Boden und der Wand des Becherglases abgeschieden. Die bei dieser Methode auftretenden Schwankungen sind nur sehr gering.

In zweiter Linie werden die von Herrn Dr. Richarz bei der krystallographischen Untersuchung sowohl der Mischungen als der aus ihnen dargestellten Dibromide erhaltenen Resultate mitgeteilt, aus denen sich ein weiterer Beweis dafür ergibt, daß keine von den in den Kreis der Untersuchung gezogenen substituierten Zimtsäuren eine mit der synthetischen Zimtsäure oder der Heterozimtsäure identische Mischung gibt.

1. Mischungen mit der Chlorzimtsäure.

1. Eine Mischung von 1 Teil p-Chlorzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure krystallisiert aus Äther in sehr dünnen Lamellen ohne Umgrenzung, die denen der synthetischen Zimtsäure äußerlich sehr ähnlich sehen. Durch ihren Chlorgehalt aber

läßt sich die Mischung leicht von chlorfreier synthetischer Zimtsäure unterscheiden.

2. Eine Mischung von 0,1 Teil p-Chlorzimtsäure und 99,9 Teilen Storaxzimtsäure gibt aus Äther gut ausgebildete Storaxzimtsäurekrystalle, die sich nur dadurch von einheitlicher Storaxzimtsäure unterscheiden, daß sie für ihre Ausdehnung zu wenig dick sind.

3. Eine Mischung von 1 Teil o-Chlorzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure liefert aus Äther gut ausgebildete Krystalle von der Form der Storaxzimtsäurekrystalle. Doch sind alle Krystalle etwas dünner und mehr in die Länge gezogen als die Krystalle der reinen Storaxzimtsäure. Ihre Verschiedenheit von synthetischer Zimtsäure ist jedoch unverkennbar.

4. Die Mischung von 1 Teil m-Chlorzimtsäure mit 99 Teilen Storaxzimtsäure liefert zum Teil vollkommen mit reiner Storaxzimtsäure übereinstimmende Krystalle, andere dagegen besitzen bei gleichem Dickenwachstum weniger gut ausgebildete Flächen.

2. Mischungen mit der Oxyzimtsäure.

1. Mischung von 1 Teil p-Oxyzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure liefert gut ausgebildete Storaxzimtsäurekrystalle.

2. Mischung von 1 Teil m-Oxyzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure liefert Krystalle, die sich von reiner Storaxzimtsäure nicht unterscheiden lassen.

3. Mischung von 1 Teil o-Cumarsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure gut ausgebildete Krystalle von mehr prismatischer Ausbildung.

Die drei Oxyzimtsäuren beeinflussen also, wie bereits oben erwähnt, das Krystallisationsvermögen der Storaxzimtsäure fast gar nicht.

3. Mischungen mit Methoxyzimtsäuren.

Da durch den Übergang von Storaxbenzaldehyd in synthetischen Benzaldehyd der Beweis erbracht worden ist, daß der synthetische Benzaldehyd nicht durch substituierte Benzaldehyde und damit die synthetische Zimtsäure nicht durch substituierte Zimtsäuren verunreinigt sein kann, so begnügten wir uns mit der Darstellung von Mischungen von Storaxzimtsäure mit o- und p-Methoxyzimtsäure.

1. Die Mischung von 1 Teil o-Methoxyzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure krystallisiert in gut ausgebildeten Krystallen von einer auch häufig bei der Storaxzimtsäure beobachteten Ausbildung.

2. Die Mischung von 1 Teil p-Methoxyzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure zeigt ein gänzlich gestörtes Krystallisationsbild, dessen Uneinheitlichkeit unverkennbar ist.

4. Mischungen mit den Methylzimtsäuren.

Solange der Beweis für die gleiche Konstitution der Komponenten der synthetischen Zimtsäure durch die Umwandlung noch nicht erbracht worden war, war es notwendig, die Möglichkeit des Vorhandenseins methylierter Zimtsäure in der synthetischen und der Heterozimtsäure ganz besonders ins Auge zu fassen, da eine Methylzimtsäure die einzige aromatische Acrylsäure ist, die nach den gemachten Erfahrungen ernstlich als Verunreinigung in Frage kommen könnte.

Denn angenommen, die synthetische Zimtsäure stellte ein Gemisch von einer Methylzimtsäure mit Storaxzimtsäure vor, so müßte in der Heterozimtsäure ein an Methylzimtsäure reicheres Gemisch vorliegen. Da aber ein Gemisch von 20°/₀ Methylzimtsäure und 80°/₀ Zimtsäure noch gut auf Zimtsäure stimmende Analysenwerte gibt, so war es denkbar, daß die Methylzimtsäure in der Heterozimtsäure noch nicht über 20°/₀ angereichert war und ihre Anwesenheit sich deshalb bei der Verbrennung der Heterozimtsäure noch nicht bemerkbar machte.

An die Anwesenheit einer Methylzimtsäure in der synthetischen und Heterozimtsäure war auch deshalb zu denken, weil ein Methylbenzaldehyd der einzige substituierte Benzaldehyd ist, der sowohl im künstlichen als im natürlichen Benzaldehyd als Verunreinigung vorkommen könnte.

Endlich kommt noch hinzu, daß die in der synthetischen Zimtsäure vorhandene Begleitsäure, wie die Messung der Leitfähigkeit und die Trennung durch fraktionierte Fällung zeigt, eine geringere Säurestärke besitzt als die Storaxzimtsäure. Da von den substituierten Zimtsäuren gerade die methylierten schwächere Säuren sind, so würde eine Methylzimtsäure auch in diesem Punkte den Anforderungen entsprechen, die man

nach den vorliegenden Beobachtungen an die Begleitsäure stellen muß.

Da uns auf verschiedenen Wegen die Darstellung eines Storaxbenzaldehyds, der bei der Perkinschen Reaktion direkt Storaxzimtsäure liefert, gelungen ist, so ist damit der Beweis erbracht, daß nicht eine α- oder β-Methylzimtsäure als Begleitsäure in Frage kommen kann, sondern daß nur eine im Benzolkern methylierte Zimtsäure als Verunreinigung denkbar ist, und wir stellten deshalb nur Mischungen von o-, m-, p-Methylzimtsäure und Storaxzimtsäure zum Vergleich mit synthetischer Zimtsäure her.

1. Mischung von 1 Teil o-Methylzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure gibt aus Äther gut ausgebildete Krystalle, die keine Ähnlichkeit mit der synthetischen Zimtsäure besitzen.

2. Mischung von 1 Teil m-Methylzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure besitzt noch den Habitus der Storaxzimtsäure, eine Störung in der Krystallisation ist jedoch deutlich bemerkbar.

3. Mischung von 1 Teil p-Methylzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure.

Von allen hergestellten Mischungen besitzt diese eine ganz außerordentliche Ähnlichkeit mit der synthetischen Zimtsäure, und wenn es nicht durch die vorher beschriebenen Beweise gelungen wäre, die Anwesenheit von Methylzimtsäure sicher auszuschlließen, so könnte man sich verleitet fühlen, diese Mischung für identisch mit der synthetischen Zimtsäure zu halten.

Auch die Mischung von 10 Teilen Methylzimtsäure und 90 Teilen Storaxzimtsäure zeigt einen der Heterozimtsäure ähnlichen Charakter.

Die Anwesenheit von p-Methylzimtsäure in einem Gemisch von 1 Teil p-Methylzimtsäure und 99 Teilen Storaxzimtsäure läßt sich aber einwandfrei durch vollständige Oxydation und Abscheidung der Terephthalsäure beweisen. Die bei der Oxydation des p-methylzimtsäurehaltigen Gemisches mit Permanganat gebildete Terephthalsäure läßt sich von der gleichzeitig entstandenen Benzoesäure leicht durch Äther trennen. Beim Übergießen mit Äther geht die Benzoesäure in Lösung und die in Äther unlösliche Terepththalsäure bleibt zurück und kann durch

ihr Verhalten identifiziert werden. Oxydationsversuche mit Heterozimtsäure, die, wenn sie eine mit p-Methylzimtsäure verunreinigte Zimtsäure wäre, viel reicher an dieser Säure sein und daher zu größeren Mengen Terephthalsäure führen müßte, lieferten keine Spur Terephthalsäure.

Durch diesen Versuch ist der Beweis geliefert, daß die synthetische Zimtsäure trotz ihrer Ähnlichkeit mit der künstlichen Mischung von Methylzimtsäure und Storaxzimtsäure p-Methylzimtsäure nicht enthält.

Trennung einer Mischung von 10 Teilen p-Methylzimtsäure und 90 Teilen Storaxzimtsäure.

Ein Beweis für die Verschiedenheit der Heterozimtsäure und der damit ähnlichen Mischung von 10 Teilen p-Methylzimtsäure und 90 Teilen Storaxzimtsäure ergibt sich daraus, daß sich, wie in der folgenden Abhandlung gezeigt wird, durch fraktionierte Fällung aus Heterozimtsäure nicht, sehr leicht dagegen aus dem Gemisch, wie der folgende Versuch zeigt, Methylzimtsäure herausarbeiten läßt.

Ein Gemisch von 2 g p-Methylzimtsäure (F.P. 192⁰) und 18 g Storaxzimtsäure wurde in Soda gelöst und zu dieser Lösung soviel Salzsäure gesetzt, daß der 10. Teil des Säuregemisches in Freiheit gesetzt wurde. Nach der Ausfällung in der Kälte wurde so lange erhitzt, bis der Niederschlag wieder gelöst war und sodann rasch abgekühlt. Die abgeschiedene Säure erwies sich in Äther ziemlich schwer löslich. Beim Verdunsten der Lösung krystallisierten am Boden feine Nädelchen aus, die nach einmaligem Umkrystallisieren unter vorherigem Erweichen bei 185⁰ statt 192⁰ schmolzen.

Bei der Analyse wurden die für Methylzimtsäure berechneten Werte erhalten:

0,1236 g gaben 0,3361 CO_2 und 0,00681 H_2O.

Ber. für $C_{10}H_{10}O_2$		Gef.	Ber. für $C_9H_8O_2$
C	74,07	74,16	72,97
H	6,17	6,12	5,41

Der Trennungsversuch wurde nochmals mit dem gleichen Resultat wiederholt.

Wenn schon die bisher ausgeführten Resultate keinen Zweifel lassen, daß die in den Kreis der Untersuchung gezogenen als Verunreinigungen der synthetischen Zimtsäure allein in Frage kommenden substituierten Zimtsäuren in der synthetischen Zimtsäure nicht enthalten sein können, so erschien es doch wünschenswert, die Verschiedenheit der untersuchten Mischungen und der synthetischen Zimtsäure auch noch durch die krystallographische Untersuchung zu erweisen.

Herr Dr. Richarz war so freundlich, sowohl die Mischungen selbst, als die aus ihnen hergestellten Dibromide zu untersuchen. Zum Vergleich stelle ich die von ihm bei den drei Zimtsäuren und ihren Dibromiden mit den bei den Mischungen erhaltenen Resultate zusammen.

Storaxzimtsäure.

Bezüglich der an der Storaxzimtsäure vorgenommenen Winkelmessungen verweise ich auf die von Fock und besonders von Richarz in seiner Dissertation mitgeteilten Resultate.

Den optischen Achsenwinkel fand Richarz bei den Präparaten der Storaxzimtsäure zu $2\,H_0 = 147^0\,46'$.

Synthetische Zimtsäure.

Die in dichten, weißen, silberglänzenden Schuppen miteinander verwachsenen Krystallaggregate der synthetischen Zimtsäure gestatten keine Krystallmessung, dagegen ließ sich der optische Achsenwinkel zu $2\,H_0 = 149^0\,35'$ bestimmen.

Hetero-α-Zimtsäure.

Auch die kleinen, leichten silberglänzenden Flitter mit elliptischer Begrenzung der Hetero-α-Zimtsäure ließen keine Winkelmessung zu. Der optische Achsenwinkel betrug $2\,H_0 = 147^0\,32'$.

Mischungen.

Die krystallographische Untersuchung der Mischungen von Storaxzimtsäure mit den substituierten Zimtsäuren ergaben, soweit sie in meßbaren Krystallen zu erhalten waren, eine völlige Übereinstimmung in den Krystallwinkeln mit der Storaxzimtsäure. Die Messung der optischen Achsenwinkel führte zu den folgenden Resultaten:

						2 H für gelbes Licht
99 %	Storaxzimtsäure	mit	1 %	o-Chlorzimtsäure		148° 58′
99 „	„	„	1 „	m-	„	149° 48′
99,9 „	„	„	0,1 „	m-	„	149° 15′
99 „	„	„	1 „	p-	„	148° 54′
99,9 „	„	„	0,1 „	p-	„	148° 28′
99 „	„	„	1 „	o-Cumarsäure		148° 22′
99,9 „	„	„	0,1 „		„	147° 59′
99 „	„	„	1 „	m-	„	148° 55′
99,9 „	„	„	0,1 „	m-	„	148° 28′
99 „	„	„	1 „	p-	„	148° 32′
99,9 „	„	„	0,1 „	p-	„	147° 58′
99 „	„	„	1 „	o-Methoxyzimts.		149° 52′
99,9 „	„	„	0,1 „	o-	„	148° 56′
99 „	„	„	1 „	o-Methylzimtsäure		148° 52′
99 „	„	„	1 „	m-	„	149° 49′
99,9 „	„	„	0,1 „	m-	„	149° 28′
99 „	„	„	1 „	p-	„	148° 40′
99,9 „	„	„	0,1 „	p-	„	148° 23′

Es ergibt sich daraus, daß gerade diejenigen Mischungen, die nach ihrer Krystallitation der synthetischen Zimtsäure am nächsten kommen, im optischen Achsenwinkel mehr von der synthetischen Zimtsäure abweichen, als andere Mischungen, die sich in der Krystallisation kaum von der Storaxzimtsäure unterscheiden.

Für die Untersuchung ist wesentlich die Art der Krystallisation aus Äther maßgebend.

Messungsresultate bei den aus den Gemischen dargestellten Dibromiden.

Die Verschiedenheit der Dibromide der Storax-, der synthetischen und der Heterozimtsäure einerseits, der aus den Gemischen hergestellten Dibromide andererseits, ergibt sich aus der folgenden Zusammenstellung:

Storaxzimtsäuredibromid.

$\beta = 78° 17'$	$o:o$ (111):(1$\bar{1}$1)	20° 2′	opt. Achsenwinkel
	$p:p$ (11$\bar{1}$):(1$\bar{1}\bar{1}$)	27° 14′	46° 34′
	$o:p$ (111):(11$\bar{1}$)	69° 50′	

Heterozimtsäuredibromid.

$\beta = 82^\circ\,30'$	$o:o\,(111):(1\bar{1}1)$	$21^\circ\,29'$	opt. Achsenwinkel
	$p:p\,(11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$	$24^\circ\,24'$	$55^\circ\,40'$
	$o:p\,(111):(11\bar{1})$	$73^\circ\,27'$	

Dibromid der synthetischen Zimtsäure.

$\beta = 77^\circ\,37^1/_2{}'$	$o:o\,(111):(1\bar{1}1)$	$20^\circ\,18'$	opt. Achsenwinkel
	$p:p\,(11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$	$24^\circ\,43'$	$57^\circ\,2'$
	$o:p\,(111):(11\bar{1})$	$65^\circ\,33'$	

Hervorzuheben ist, daß das Achsenbild nur bei den von Herrn Dr. Richarz untersuchten Heterozimtsäuredibromiden stets ungestört gefunden wurde. Dagegen war es immer gestört bei den Dibromiden der synthetischen Zimtsäure und in einzelnen Fällen bei den Dibromiden der Storaxzimtsäure. Wie Herr Dr. Fock zuerst fand, enthielt das von ihm untersuchte Präparat von Storaxzimtsäuredibromid einige Krystalle von Heterozimtsäuredibromid. Auf Grund dieser Feststellung gelang es mir dann durch Destillation des Storaxzimtsäureesters auch chemisch das Vorhandensein geringer Mengen Heterozimtsäure nachzuweisen.

Die bei einigen Präparaten des Storaxzimtsäuredibromids nachweisbaren gestörten Achsenbilder sind danach auf die Beimischung geringer Mengen von Heterozimtsäuredibromid zurückzuführen.

Die Untersuchung der aus Gemischen von 99 Teilen Storaxzimtsäure mit 1 Teil substituierter Zimtsäure hergestellten Dibromide zeigen, wie Herr Dr. Richarz feststellte, alle ein gänzlich gestörtes Achsenbild. Ferner zeigen die einzelnen Krystalle desselben Präparates unter sich erhebliche Differenzen in den Winkeln, woraus nach Ansicht von Herrn Dr. Richarz zu schließen ist, daß die aus den Gemischen dargestellten Dibromide größere Neigung haben, nebeneinander, als zusammen auszukrystallisieren.

Bei der Untersuchung der Mischungen hat sich Herr Dr. Richarz auf die Messung der drei Winkel $o:o$, $p:p$ und $o:p$ beschränkt, soweit die Messung überhaupt möglich war.

Mischung mit 1% o-Chlorzimtsäure.

$o:o\,(111):(1\bar{1}1)$	$19^\circ\,58'$
$p:p\,(11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$	$24^\circ\,26'$
$o:p\,(111):(11\bar{1})$	$66^\circ\,48'$

Mischung mit 1% m-Chlorzimtsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 18° 49′—19° 2′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 20° 33′—22° 2′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 66° 25′—67° 18′

Mischung mit 1% p-Chlorzimtsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 18° 20′—19° 33′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 20° 5′—21° 13′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 67° 31′—69° 2′

Mischung mit 1% o-Cumarsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 20° 40′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 24° 19′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 67° 18′

Mischung mit 1% m-Cumarsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 20° 35′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 24° 56′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 66° 45′—67° 4′

Mischung mit 1% p-Cumarsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 20° 41′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 24° 32′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 67° 35′

Mischung mit 1% o-Methoxyzimtsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 20° 54′—22° 33′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 24° 53′—28° 33′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 67° 17′—68° 25′

Mischung mit 1% p-Methoxyzimtsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 19° 39′—21° 2′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 24° 26′—26° 3′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 66° 33′—67° 25′

Mischung mit 1% o-Methylzimtsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ —
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 24° 25′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 68° 4′

Mischung mit 1% m-Methylzimtsäure.

$o:o\ (111):(1\bar{1}1)$ 19° 51′—20° 43′
$p:p\ (11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ 24° 16′—24° 48′
$o:p\ (111):(11\bar{1})$ 67° 3′—67° 54′

Mischung mit 1 % p-Methylzimtsäure.

$o:o\,(111):(11\bar{1})$ —

$p:p\,(11\bar{1}):(1\bar{1}\bar{1})$ —

$o:p\,(111):(11\bar{1})$ 67° 53′—69° 31′

Wie schon eingangs erwähnt, waren die Mischungsversuche begonnen worden, als es noch nicht gelungen war, durch die Umwandlung den Beweis für die Strukturgleichheit der Komponenten der synthetischen Zimtsäure zu bringen und daher noch die Möglichkeit, die synthetische Zimtsäure könne durch eine substituierte Zimtsäure verunreinigt sein, berücksichtigt werden mußte.

Da sich die Abwesenheit der halogen-, sticksoff- und schwefelhaltigen substituierten Zimtsäure leicht durch Prüfung der synthetischen Zimtsäure auf die genannten Elemente dartun ließ, so war es eigentlich nunmehr nötig, die Mischungen von Storaxzimtsäure mit den Hydroxy-, Methoxy- und Methylzimtsäuren auf ihre Ähnlichkeit mit der synthetischen Zimtsäure zu prüfen

Die Versuche haben ergeben, daß von den genannten substituierten Zimtsäuren allein die p-Methylzimtsäure eine mit der synthetischen Zimtsäure ähnliche Mischung gibt.

Damit kommen die übrigen substituierten Zimtsäuren als Verunreinigungen der synthetischen Säure nicht mehr in Betracht und es war nun noch notwendig, den Beweis für die Abwesenheit der o-Methylzimtsäure in der synthetischen Zimtsäure zu erbringen.

Da sich selbst geringe Mengen p-Methylzimtsäure neben Zimtsäure durch Oxydation zu der in Äther schwer löslichen und daher leicht abscheidbaren Terephthalsäure nachweisen lassen, so gelang es, nach dieser Methode zu zeigen, daß die Heterozimtsäure und damit auch die synthetische Zimtsäure p-Methylzimtsäure nicht enthalten.

Auch die krystallographische Untersuchung und Vergleichung des Gemisches mit p-Methylzimtsäure und des daraus dargestellten Dibromids beweisen, daß die so ähnliche Mischung von 1 % Methylzimtsäure und 99 % Storaxzimtsäure mit der synthetischen Zimtsäure nicht identisch ist.

Da sich aus den Mischungsversuchen ergibt, daß keine der substituierten Zimtsäuren als in der synthetischen Zimtäuser

enthaltenen Begleitsäure in Frage kommt, so muß geschlossen werden, daß die Begleitsäure keine substituierte Zimtsäure ist, sondern eine andere Modifikation der Zimtsäure vorstellt.

Die Mischungsversuche bestätigen also das durch die Umwandlung erhaltene Resultat.

Der Umstand, daß die einzelnen Krystalle der aus den Mischungen erhaltenen Dibromide sehr wechselnde Winkel und zugleich gestörte Achsenbilder aufweisen, zeigt, daß diese Präparate sämtlich uneinheitlich sind, während die Dibromide der Storax- und der Heterozimtsäure, die konstante Winkel und ungestörte Interferenzbilder zeigen, als Individuen aufzufassen sind.

Außer den bisher erwähnten Unterschieden zwischen der synthetischen Zimtsäure und den künstlichen Mischungen mag noch auf das verschiedene Verhalten bei der fraktionierten Fällung hingewiesen werden.

Bei der fraktionierten Fällung der synthetischen Zimtsäure in 10 gleichen Teilen erhält man ein für diese Säure charakteristisches Trennungsbild, von dem sich die bei den Mischungen erhaltenen Trennungsbilder wesentlich unterscheiden. Es würde zu weit führen, alle bei den Mischungen vorgenommenen Trennungen im einzelnen zu beschreiben.

Die Tatsache, daß einige der untersuchten substituierten Zimtsäuren bereits in sehr geringer Menge das Krystallisationsvermögen der Storaxzimtsäure beeinflussen, ist sehr bemerkenswert und zeigt wie notwendig es ist, von der krystallographischen Untersuchung zur Feststellung der Einheitlichkeit resp. der Individualität einer Substanz möglichst oft, in zweifelhaften Fällen immer Gebrauch zu machen.

Weitere Trennungsversuche mit Heterozimtsäure.

Von

E. Erlenmeyer und G. Hilgendorff.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem bei Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juni 1911.)

Durch die Umwandlung der schön krystallisierten Storaxzimtsäure in synthetische resp. Heterozimssäure unter Bedingungen, unter denen eine Veränderung in der Struktur des Moleküls ausgeschlossen ist, wurde der Beweis für die Strukturgleichheit der in der synthetischen Zimtsäure enthaltenen Komponenten erbracht.

Dabei war aber die Frage, ob sich die beiden aus der synthetischen Zimtsäure abgeschiedenen Komponenten, die Storax- und die Heterozimtsäure, noch weiter trennen lassen oder nicht, offen gelassen worden.

Gegen die Heterozimtsäure hatte sich ihres geringen Krystallisationsvermögens wegen der Verdacht erhoben, sie wäre noch nicht einheitlich. Es war deshalb angezeigt, festzustellen, ob es durch weitere Trennungsversuche möglich ist, die Heterozimtsäure in ihren Eigenschaften weiter zu verändern, vielleicht aus ihr eine besser krystallisierende Substanz herauszuarbeiten.

Da sich aus der schlecht krystallisierenden Heterozimtsäure ein in meßbaren Krystallen sich abscheidendes Dibromid gewinnen ließ, dessen Individualität und dessen Verschiedenheit von dem Storaxzimtsäuredibromid sich aus der krystallographischen Untersuchung ergibt, so könnte die Heterozimtsäure höchstens ein kontantes Gemisch sehr nahe verwandter Modifikationen der gleichen Zusammensetzung sein, das sich wie ein einheitlicher Körper verhält.

Die bei den Trennungsversuchen mit synthetischer Zimtsäure erhaltene erste Zehntelfällung besitzt die typischen Eigenschaften der Heterozimtsäure. Das daraus gewonnene Dibromid ist identisch mit den Dibromiden der durch Trennung der Ester gewonnenen Heterozimtsäure. Die 2. bis 5. Fällung besitzt den Charakter von heterozimtsäurereichen Mischungen, die 6. bis 10. Fällung besteht aus reiner Storaxzimtsäure.

Angenommen, die Heterozimtsäure sei noch nicht einheitlich, so ergibt sich aus den Trennungsversuchen klar und deutlich, daß die Hauptmenge der neben Storaxzimtsäure enthaltenen Begleitsäure mit der ersten Zehntelfällung zur Abscheidung gelangt.

Wenn man nun von dieser ersten Zehntelfällung, unserer Heterozimtsäure, wieder das erste Zehntel ausfällt und so weiter fortfährt, so muß man schließlich die Begleitsäure, wenn sie in ihren Eigenschaften von der Heterozimtsäure verschieden sein sollte, mit den ihr zukommenden Eigenschaften in einheitlicher Form zur Abscheidung bringen können.

Trennungsversuch mit 240 g synthetischer Zimtsäure.

240 g aus Schimmels synthetischem, garantiert chlorfreiem Benzaldehyd dargestellte synthetische Zimtsäure wurden in 6 gleichen Teilen mit Soda genau neutralisiert und sodann je $^1/_{10}$ durch $10^0/_0$ige Salzsäure ausgefällt. Die nach $^1/_2$ stündigem Kochen und darauffolgender rascher Abkühlung erhaltenen Niederschläge wurden getrocknet und zusammen aus Ligroin krystallisiert. Es schieden sich 18 g statt 24 g völlig kreidige Säure ab, die aus Äther krystallisiert das Bild der Hetero-β-Zimtsäure zeigte. Zur weiteren Trennung wurde die Säure wieder in Soda gelöst und der Zehntelfällung unterworfen. Um nicht mit zu geringen Substanzmengen weiter arbeiten zu müssen, wurden die ersten beiden Zehntelfällungen, die aus Äther die typische Abscheidungsart der Hetero-β-Zimtsäure besaßen, vereinigt. Aus heißem Wasser krystallisiert wurden die für Hetero-β-Säure charakteristischen Erscheinungen beobachtet. Die Menge der so erhaltenen Säure betrug nunmehr 1,2 g. Durch fraktionierte Fällung wurde sie in zwei gleiche Teile zerlegt. Die erste Fällung zeigte unverändert das Verhalten der Hetero-

β-Zimtsäure. Eine Steigerung des Schmelzpunktes war nicht zu bemerken. Die Verbrennung gab das folgende Resultat:

0,1414 g gaben 0,3792 CO_2 und 0,0698 H_2O.

	Ber. f. $C_9H_8O_2$	Gef.
C	72,97	73,14
H	5,41	5,49

Trennungsversuch mit 2 kg synthetischer Zimtsäure.

2 kg aus dem nämlichen Benzaldehyd dargestellte synthetische Zimtsäure wurden in Portionen zu je 100 g in 2 l siedendem Wasser mit Soda genau neutralisiert. Aus den einzelnen Portionen wurden je 15 g = 15 % durch die berechnete Menge Salzsäure ausgefällt. Die erhaltenen Ausscheidungen wurden durch Erhitzen wieder in Lösung gebracht und die Lösung etwa 1/2 Stunde im Sieden gehalten. Die in Freiheit gesetzte Säure wurde durch rasches Abkühlen wieder abgeschieden und durch Filtration getrennt. Statt der berechneten 300 g hatten sich 280 g Säure ausgeschieden.

Diese erste Ausscheidung, die die Hauptmenge der Begleitsäure enthalten mußte, wurde in derselben Weise wie oben in drei Teilen neutralisiert und von jedem Teil 10 % Säure ausgefällt.

Die abgeschiedene Säure wurde noch feucht mit Soda neutralisiert und 20 % der gelösten Säure ausgefällt, in der Hitze wieder gelöst und darauf durch Abkühlen zur Ausscheidung gebracht.

Die erhaltene Substanz, die unverändert die Eigenschaften der Hetero-β-Säure besaß, wog 3,5 g. Zur weiteren Anreicherung wurde nochmals in Soda gelöst und 50 % der gelösten Säure wieder ausgefällt. Die freigemachte Säure wurde in Äther aufgenommen. Nach dem Verdunsten schied sie sich in der für Hetero-β-Säure charakteristischen Form ab. Der Schmelzpunkt war nicht gestiegen, sondern lag, wie früher beobachtet, bei 128°.

Die Analyse ergab:

0,0956 g gaben 0,2550 CO_2 und 0,0472 H_2O.

	Ber. f. $C_9H_8O_2$	Gef.
C	72,97	72,75
H	5,41	5,48

Auch bei diesem Versuche ließ sich also keine Säure auffinden, die in Eigenschaften und Zusammensetzung von der Hetero-β-Säure verschieden war, und es bleibt nur der Schluß übrig, daß eine Begleitsäure anderer Zusammensetzung in der synthetischen Zimtsäure nicht vorhanden ist.

Trennungsversuche mit Heterozimtsäure nach einer anderen Methode der fraktionierten Fällung.

Die häufig vorgenommenen Trennungen der synthetischen Zimtsäure durch fraktionierte Fällung hatten den Verdacht erweckt, daß bei dem angewandten Verfahren neben der Trennung eine allmähliche Umwandlung in Storaxzimtsäure stattfindet, wie dies ähnlich bei der fortgesetzten Sublimation früher beobachtet wurde.

Die sowohl durch Destillation des synthetischen Zimtesters als durch die erste Zehntelfällung aus synthetischer Zimtsäure dargestellte Heterozimtsäure ist durch die übereinstimmend gefundenen krystallographischen Konstanten ihres Dibromids

$$\beta = 82^\circ 30', \ p:o\ (11\bar{1}):(111)\ 73^\circ 19', \ 2\mathrm{H}\ 55^\circ 42'$$

als Individuum festgelegt.

Findet nun bei der von uns angewandten Methode der fraktionierten Fällung in der Siedehitze ein allmählicher Zustandswechsel von Hetero- zu Storaxzimtsäure statt, so war zu erwarten, daß man bei wiederholter Anwendung des Trennungsverfahrens auf Heterozimtsäure aufs neue würde Storaxzimtsäure abscheiden können, und zwar ohne daß sich dadurch die Heterozimtsäure in ihrem Charakter veränderte.

Zur Aufklärung dieser Frage wurde der folgende Versuch angestellt:

18 g aus 220 g synthetischer Zimtsäure durch die erste Zehntelfällung abgeschiedene und aus Wasser krystallisierte Heterozimtsäure wurde genau mit Soda neutralisiert. Durch Zusatz der berechneten Menge Salzsäure zu der klaren farblosen Lösung wurden $^5/_6$ der angewandten Heterozimtsäure in Freiheit gesetzt, während $^1/_6$ an Natrium gebunden blieb. Die Flüssigkeit mitsamt dem Niederschlag wurde darauf etwa $^1/_2$ Stunde zum Sieden erhitzt und sodann wurde die freigemachte Heterozimtsäure durch Abkühlung rasch zur Ab

scheidung gebracht. Die abgeschiedene Säure besaß unverändert die Eigenschaften der angewandten Hetero-β-Zimtsäure. Das noch in Lösung befindliche letzte Sechstel, in Freiheit gesetzt, besaß dagegen die Eigensaften der Storaxzimtsäure.

Die zuerst abgeschiedenen $^5/_6$ wurden in der gleichen Weise wieder mit Soda neutralisiert und $^5/_6$ davon in Freiheit gesetzt. Aus der nach $^1/_2$stündigem Kochen abgekühlten Lösung schied sich wieder unveränderte Heterozimtsäure ab. Das aus der Lösung abgeschiedene letzte Sechstel besaß die Eigenschaften einer Mischung, aus der sich durch Wiederholung des Versuchs sowohl Hetero- als auch Storaxzimtsäure abscheiden ließ.

Mit den durch die erste Fällung gewonnenen 5 Sechsteln wurde immer aufs neue die angegebene Trennung ausgeführt. Zum besseren Verständnis stelle ich das Gesamtergebnis der Versuche durch das folgende Schema dar:

18 g Hetero-β-Zimtsäure:

1. Davon $^5/_6$ ausgefällt Hetero-β-Zimtsäure	letztes Sechstel Storaxzimtsäure
2. Von 1. $^5/_6$ ausgefällt Hetero-β-Zimtsäure	letztes Sechstel Gemisch 1. Hälfte ausgef. Heterozimts. 2. Hälfte ausgef. Storaxzimts.
3. Von 2. $^5/_6$ ausgefällt Hetero-β-Zimtsäure	letztes Sechstel Storaxzimtsäure
4. Von 3. $^5/_6$ ausgefällt Hetero-β-Zimtsäure	letztes Sechstel Storaxzimtsäure
5. Von 4. $^5/_6$ ausgefällt Hetero-β-Zimtsäure	letztes Sechstel Storaxzimtsäure
6. Von 5. $^5/_6$ ausgefällt Hetero-β-Zimtsäure	letztes Sechstel Storaxzimtsäure

Von der bei 6. erhaltenen Hetero-β-Zimtsäure, die 1,8 g betrug, wurde eine Verbrennung ausgeführt.

0,1663 g gaben 0,4459 CO_2 und 0,0823 H_2O.

	Ber. f. $C_9H_8O_2$	Gef.
C	72,97	73,13
H	5,41	5,50

Die durch die erste Zehntelfällung aus synthetischer Zimtsäure abgeschiedene Heterozimtsäure, die durch ihr krystallographisch bestimmtes Dibromid charakterisiert ist, gibt also

bei dem angewandten Verfahren noch Storaxzimtsäure ab. Da aber die bei den einzelnen Fällungen gewonnenen Fraktionen der Heterozimtsäure, trotz der scheinbaren Abtrennung von Storaxzimtsäure aus ihr, sowohl im Schmelzpunkt als in ihrem Verhalten bei der Krystallisation sich nicht ändern, so muß man annehmen, daß die gewonnene Storaxzimtsäure sich nicht durch Trennung, sondern durch allmähliche Umwandlung aus der Heterozimtsäure gebildet hat. Denn wären sie durch Trennung gewonnen, so hätten sich die von ihr befreiten Fraktionen irgendwie in ihren Eigenschaften untereinander sowohl, als auch von der angewandten Heterozimtsäure unterscheiden müssen.

Die zuletzt erhaltenen und analysierten 1,8 g Heterozimtsäure, die etwa 1 % der angewandten synthetischen Zimtsäure entsprachen, mußten unter allen Umständen deutliche, von den für Zimtsäure berechneten, abweichende Werte ergeben, wenn die synthetische Zimtsäure eine Begleitsäure anderer Zusammensetzung enthielt, da die Anreicherung der Begleitsäure durch das Verfahren nahezu bis auf 100 % erfolgt sein muß.

Die gut stimmende Analyse dieser Fraktion zeigt aufs neue, daß die Annahme einer anders zusammengesetzten Begleitsäure in der synthetischen Zimtsäure nicht zulässig ist.

Abscheidung der Storaxzimtsäure aus 100 g synthetischer Zimtsäure durch fraktionierte Fällung.

Alle mit synthetischer Zimtsäure durch fraktionierte Fällung vorgenommenen Trennungsversuche haben ergeben, daß die Gesamtmenge der Begleitsäure mit der ersten Hälfte der Fällungen abgeschieden wird, während die zweite Hälfte der Fällungen aus Storaxzimtsäure besteht.

Bei dem folgenden Versuch wurde deshalb die Natriumsalzlösung von 100 g synthetischer Zimtsäure zunächst in der üblichen Weise in zwei gleichen Hälften ausgefällt. Nach der ersten Fällung wurde die Flüssigkeit nebst Niederschlag längere Zeit zum Sieden erhitzt. Die zu zweit ausgefällte Hälfte besaß die Eigenschaften der Storaxzimtsäure. Es muß daher die ganze Menge der Begleitsäure mit der ersten Hälfte zur Abscheidung gelangt sein. Die Menge dieser Hälfte betrug 46,1 g statt 50 g.

Die weitere Fraktionierung geschah in der Weise, daß nach jeder neuen Fällung ungefähr 10 g Säure an Natrium gebunden blieben, die dann durch die zweite Fällung abgeschieden wurden.

Die Resultate der Fraktionierung ergeben sich aus der folgenden Zusammenstellung.

46,4 g

	Erstfällungen	Zweitfällungen
1.	37 g	ca. 10 g besteht aus Storaxzimtsäure
2.	27 g	„ 10 g „ „ „
3.	15,2 g	„ 10 g „ „ „
4.	5 g	„ 10 g „ „ „

Die zweite Hälfte der zuerst aus der synthetischen Zimtsäure ausgefällten Storaxzimtsäure und die bei den vier Zweitfällungen erhaltene Storaxzimtsäure entsprechen zusammen, abgesehen von den unvermeidlichen Verlusten, 90% der angewandten synthetischen Zimtsäure. Da sie aus fast einheitlicher Storaxzimtsäure bestehen, so hat man anzunehmen, daß die Begleitsäure in den 5 g der letzten Erstfällung im Vergleich zur ursprünglichen synthetischen Zimtsäure um das 10fache angereichert ist.

Da die Unterschiede in der Zusammensetzung von organischen Säuren bei der Analyse des Silbersalzes, insbesondere der Silberbestimmung, stärker hervortreten als bei der Kohlenstoffbestimmung der freien Säure, wurde ein aus dieser Fällung gewonnenes Silbersalz analysiert.

I. 0,2039 g gaben 0,0859 g Ag

II. 0,3491 g „ 0,1474 g Ag

	Berechnet für $C_9H_7O_2Ag$	Gefunden I.	II.
Ag	42,35	42,13	42,22

Der Rest der 5 g wurde dem folgenden Schema entsprechend weiter gefällt.

	Erstfällungen	Zweitfällungen
1.	3,5 g	zwisch. synth. u. Heterozimtsäure
2.	2 g	„ „ „ „
3.	1 g	„ „ „ „

Von der auf 1 g angereicherten Begleitsäure, die unverändert die Eigenschaften der Hetero-β-Zimtsäure besaß, wurde

nach der Krystallisation aus Wasser und darauf aus Ligroin eine Verbrennung ausgeführt.

0,1370 g gaben 0,3678 g CO_2 und 0,0657 g H_2O

	Berechnet für $C_9H_8O_2$	Gefunden
C	72,97	73,06
H	5,41	5,33

Aus den drei letzten Zweitfällungen, die in ihrem Charakter zwischen synthetischer und Hetero-α-Zimtsäure stehen, erhält man bei erneuter Fraktionierung neben Hetero-β-Zimtsäure Storaxzimtsäure.

Auch dieser Versuch zeigt, daß bei fortgesetzter Fraktionierung neben Heterozimtsäure immer aufs neue Storaxzimtsäure abgeschieden wird. Da die Heterozimtsäure, trotz der Gewinnung von Storaxzimtsäure aus ihr, in ihren Eigenschaften unverändert bleibt, kann man nichts anderes annehmen, als daß bei dem fortgesetzten Fraktionierungsverfahren ein allmählicher Übergang von Hetero- in Storaxzimtsäure stattfindet.

Da es nicht gelungen ist, eine von der Heterozimtsäure in Eigenschaften und Zusammensetzung verschiedene Begleitsäure abzuscheiden, ist die Heterozimtsäure selbst als die Begleitsäure der Storaxsäure in der synthetischen Zimtsäure anzusprechen.

Über das Mischungsverhältnis von Storax- und Heterozimtsäure in der synthetischen Zimtsäure.

Zur Feststellung des Mischungsverhältnisses zweier Substanzen stehen nur zwei Wege zur Verfügung, der analytische und der synthetische.

Der analytische setzt voraus, daß man die Bestandteile des Gemisches, ohne daß dabei gegenseitige Umwandlungen stattfinden können, quantitativ voneinander trennen und nach der Trennung ihre Mengen dem Gewicht nach bestimmen kann.

Der synthetische Weg dagegen setzt voraus, daß man die Bestandteile des Gemisches kennt und daß sie dem Experimentator zugänglich sind. Ist diese Voraussetzung erfüllt, so ist es notwendig, Mischungen nach verschiedenen Verhältnirsen herzustellen und durch Vergleich zu bestimmen, welchem dieser Mischungen das fragliche Gemisch entspricht. Bei der Trennung der synthetischen Zimtsäure in ihre Komponenten hat sich

gezeigt, daß bei allen Trennungsmethoden gleichzeitig eine allmähliche Umwandlung stattfindet.

Bei einer Trennung des synthetischen Zimtsäureesters durch fraktionierte Destillation, die sehr lange fortgesetzt worden war, wurde gefunden, daß schließlich alle Destillate sowie die Rückstände bei der Verseifung Storaxzimtsäure gaben. Dieses vollständige Verschwinden der Heterozimtsäure läßt sich nur durch Umwandlung erklären.

Ebenso wurde bei der fortgesetzten Sublimation und der fortgesetzten fraktionierten Fällung die Annahme einer allmählichen Umwandlung von Hetero- in Storaxzimtsäure unter den Bedingungen der Trennung notwendig,

Es ist demnach ganz aussichtslos, auf Grund der Trennungsergebnisse einen Aufschluß über das Verhältnis von Storax- zu Heterozimtsäure in der synthetischen Zimtsäure zu erwarten, und es bleibt nur die Möglichkeit übrig, das Mischungsverhältnis auf synthetischem Wege zu ermitteln.

Die bereits früher mitgeteilten Versuche haben ergeben, daß die Gemische von 10 und 20% Hetero-α-Zimtsäure mit 90 resp. 80% Storaxzimtsäure sich nicht merklich von der einheitlichen Storaxzimtsäure unterscheiden. Bei Zusatz von 30 bis 40% Hetero-α-Zimtsäure beginnt die Bildung der ausgedehnten, sehr dünnen, jedoch noch gerade umgrenzten Lamellen und bei 50% ist genau der Typus der synthetischen Zimtsäure erreicht.

Seitdem haben wir uns durch viel neuere Mischungsversuche überzeugt, daß gleiche Teile Hetero-α-Zimtsäure und Storax-α-Zimtsäure stets die typische synthetische Zimtsäure liefern.

Der Unterschied zwischen synthetischer Zimtsäure und Hetero-α-Zimtsäure läßt sich sehr schön illustrieren durch Herstellung der Mischungen von Storax-α-Zimtsäure mit 10 bis 90% synthetischer Zimtsäure einerseits und mit 10 bis 90% Hetero-α-Zimtsäure andererseits.

Von den mit Hetero-α-Zimtsäure hergestellten Mischungen entspricht die zu gleichen Teilen der synthetischen Zimtsäure. Von den Mischungen mit synthetischer Zimtsäure erreicht erst die mit 90% hergestellte wieder den synthetischen Charakter, was verständlich wird, wenn man annimmt, daß die synthetische

Zimtsäure aus gleichen Teilen Hetero-α- und Storaxzimtsäure besteht, denn die Mischung mit 90% synthetischer Säure entspricht alsdann einer Mischung von 45 Teilen Hetero-α-Zimtsäure und 55 Teilen Storax-α-Zimtsäure, d. h. nahezu der synthetischen Zimtsäuren.

Schwieriger ist die Beurteilung der Mischungen von Hetero-β-Zimtsäure und Storax-α-Zimtsäure, wie schon früher erwähnt wurde.

Es scheint, daß die Hetero-β-Zimtsäure bei der gemeinschaftlichen Lösung mit Storax-α-Zimtsäure mitunter in Hetero-α-Zimtsäure übergeht, so daß der gleiche Mischungseffekt wie bei Anwendung der Hetero-α-Zimtsäure erzielt wird, in anderen Fällen dagegen scheint es auch vorzukommen, daß bei der gemeinschaftlichen Lösung alles in die β-Form übergeht und infolgedessen Ätherkrystallisationen von dem Charakter der Hetero-β-Zimtsäure entstehen. Die hergestellten Mischungen von Storax-β-Zimtsäure mit 10 bis 90% Hetero-β-Zimtsäure geben aus Äther sowohl unter sich, als mit der Hetero-β-Zimtsäure übereinstimmende Ausscheidungen.

Wie aus einer Reihe von Versuchen zu schließen ist, vermag die Hetero-β-Zimtsäure, wenn sie bei der gemeinschaftlichen Lösung mit der Storax-α-Säure ihren β-Charakter nicht ändert, bereits in einer Beimengung von 10% ein der synthetischen Zimtsäure ähnliches Krystallisationsbild zu geben.

So gaben auch die bei dem letzten Anreicherungsversuch erhaltenen Hetero-β-Zimtsäuren, sowohl die auf 5 g, als die auf 1 g angereicherte Säure, übereinstimmend bei 1% Beimischung zur Storax-α-Zimtsäure keine merkliche Veränderung, bei 10% Beimischung wurde das Bild der synthetischen Zimtsäure erhalten.

Ein Teil der Versuche wurde mit den bei einem Parallelversuch gewonnenen Abscheidungen ausgeführt.

Bei der großen Ähnlichkeit der Mischungen von gleichen Teilen Storax-α- mit Hetero-α-Zimtsäure einerseits und der Mischung von 90 Teilen Storax-α- und 10 Teilen Hetero-β-Zimtsäure läßt sich natürlich nicht entscheiden, ob in einem bestimmten Falle das eine oder das andere Gemisch vorliegt, und es ist daher auch nicht möglich zu entscheiden, ob die aus dem natürlichen blausäurefreien Benzaldehyd erhaltene

synthetische Zimtsäure die Heterozimtsäure in der α- oder in der β-Form enthält. Das Verhältnis der α- und β-Modifikationen zueinander bedarf sowohl bei der Storax- als bei der Heterozimtsäure noch eines eingehenderen Studiums, dem wir uns bei der Schwierigkeit der bis hierher geförderten Untersuchung bisher nicht zuwenden konnten.

Alle voranstehend mitgeteilten Untersuchungen haben also übereinstimmend zu dem Resultat geführt, daß die aus dem garantiert chlorfreien Benzaldehyd oder die aus natürlichem blausäurefreien Bittermandelöl dargestellte synthetische Zimtsäure ihre von denen der Storaxzimtsäure abweichende Eigenschaften nicht einer Verunreinigung verdankt, daß sie vielmehr als ein zusammen krystallisierendes Gemisch von Storaxzimtsäure mit einer zweiten isomeren Säure der Heterozimtsäure aufzufassen ist.

Zum Schluß ist es uns eine angenehme Pflicht, der Firma Schimmel für die vielfache Unterstützung bei dieser Untersuchung und besonders auch Herrn Dr. Richarz für die Ausführung der zahlreichen krystallographischen Untersuchungen der von uns dargestellten Präparate unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

Die Schlußabhandlung „Zur Frage nach der Existenzfähigkeit molekular-asymmetrischer Storaxzimtsäuren und theoretische Betrachtungen über die Isomerie bei Äthylenderivaten“ wird in einem der nächsten Hefte erscheinen.

Studien über die Wirkungen des Crotalusgiftes[1]).

Von

Ivar Bang und E. Overton.

(Aus dem medizinisch - chemischen und pharmakologischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 12. Juni 1911.)

Einleitung.

Vor kurzem haben wir in dieser Zeitschrift die Resorptionsverhältnisse des Kobragiftes und die Faktoren, die die Vergiftung beeinflussen, behandelt.

Die Kobra (Brillenschlange) gehört bekanntlich zu jener Abteilung der Giftschlangen, die als Colubridae venenosae bezeichnet wird und die große Mehrzahl der giftigen Schlangen umfaßt. Es schien uns nun besonders wünschenswert, unsere Studien auch noch über einen oder mehrere Vertreter der zweiten Abteilung der Giftschlangen, der Viperidae, zu denen die beiden Unterabteilungen der Crotalinae (Grubenottern) und Viperinae (Vipern) gehören, auszudehnen, — dies um so mehr, als die Symptome beim Menschen nach einem Biß durch diese letztgenannten Schlangen von den Symptomen nach einem Kobrabiß recht stark abweichen, indem die lokalen Gewebsveränderungen in der unmittelbaren Nähe der Bißstelle einen unvergleichlich höheren Grad erreichen und sich allmählich auf weitere Strecken ausdehnen. Diese lokalen Erscheinungen, die sich besonders durch sehr starkes Ödem in dem getroffenen Körperteil, durch Blutaustritte, Hämolyse und leichenfleckartige Verfärbungen äußern, ziehen meist die Aufmerksamkeit der Ärzte und Krankenwärter mehr auf sich als die Störungen seitens des Zentralnervensystems, obgleich auch diese immer deutlich ausgeprägt sind und bei raschem tödlichem Ausgange der Vergiftung wohl auch hier die gewöhnlichste Todesursache ausmachen[2]).

---

[1]) Die wesentlichsten Ergebnisse dieser Untersuchung wurden am 10. Mai 1911 in einer Sitzung von der Kgl. fysiografiska Sällskap i Lund vorgetragen.

[2]) Über die Symptome beim Menschen nach dem Biß der wichtigeren Giftschlangen vergleiche man Charles J. Martin in Allbutts System of Medicine; ferner Faust, Die tierischen Gifte, Braunschweig 1906.

Bisher gelang es uns nicht, Kreuzottergift zu verschaffen, dank aber der großen Güte von Professor Flexner in New York, der uns eine genügende Menge Crotalusgift (Klapperschlangengift) zur Verfügung stellte, wofür wir ihm auch an dieser Stelle herzlich danken, war es uns dennoch möglich, unser Vorhaben auszuführen, und es gibt gute Gründe anzunehmen, daß der Mechanismus der Vergiftung durch Crotalus (Klapperschlange) im wesentlichen mit der durch den Kreuzotter und andere Viperinae (Cerastes aegyptiacus, Vipera aspis, V. ammodytes usw.) übereinstimmt, da die Symptome der Vergiftung bei allen diesen Schlangen sehr ähnlich sind und sich meist nur durch ihre Intensität unterscheiden und alle diese Schlangen recht nahe verwandt sind.

Wie bei unserer Untersuchung über das Kobragift haben wir auch bei der vorliegenden Untersuchung vorwiegend Kaulquappen als Versuchsobjekte benutzt. Bezüglich der allgemeinen Methodik bei der Anwendung von Kaulquappen zu Versuchszwecken können wir auf die Angaben in unserer Kobra-Arbeit hinweisen, müssen aber hinzufügen, daß wir wegen der Leichtigkeit, mit der Crotalusgiftlösungen in Fäulnis geraten, die Lösungen für jeden Tag frisch bereiteten.

Die starken lokalen Wirkungen des Crotalusbisses beim Menschen und bei den Säugetieren legten uns die Vermutung nahe, daß Crotalusgift wohl in recht niedrigen Konzentrationen auf Kaulquappen einwirken dürfte, aber vielleicht die Haut- und Kiemenepithelien bei fast ebenso geringen Konzentrationen affizieren würde wie die Nervenzentra, und wir wandten daher bei den ersten Versuchen recht verdünnte Lösungen, Lösungen von 1 : 100000 und später 1 : 10000 an. Wir waren nicht wenig überrascht, als diese Lösungen sich gegenüber Kaulquappen völlig wirkungslos erwiesen, da Kobragift schon in viel geringeren Konzentrationen sehr rasch wirkte[1]). Wir gingen dann allmählich zu immer höheren Konzentrationen über, bis wir zu Lösungen von 1 : 1000 gelangten; da aber selbst diese Lösungen ohne Wirkung waren, haben wir diese Art von Versuchen zunächst eingestellt, denn Vergiftungen, die erst durch noch höhere Konzentrationen des Giftes eintreten könnten, schienen zunächst sehr wenig Interesse zu bieten. Es muß übrigens erwähnt werden, daß die bei den ersten Versuchen verwendeten Kaulquappen recht jung, zum Teil noch mit äußeren Kiemen versehen waren, auch war die Temperatur bei einem Teil der Versuche ziemlich niedrig (ca. 14 bis 15° C), und bei dem Versuche mit 1 : 1000 war die Menge der an-

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 31, 247 u. f.

gewandten Lösung eine geringe, alles Umstände, die einen gewissen, wenn auch nicht großen Einfluß auf die Versuchsresultate übten, wie sich später herausstellte.

Erst als wir ein sehr wichtiges Glied in dem allgemeinen Gange der Vergiftung aufgedeckt hatten, kamen wir zu Versuchen mit höher konzentrierten Lösungen von Crotalusgift in reinem Wasser zurück, da ihre Bedeutung von dem neugewonnenen Gesichtspunkte aus leicht ersichtlich war.

Bald nach Beginn der Untersuchung, als diese zunächst zu keinen brauchbaren Ergebnissen zu führen schien, verfielen wir nämlich auf die Idee, das getrocknete Crotalusgift, statt in Wasser, in Serum, Blut oder hämolysierten Blutkörperchen aufzulösen und die Kaulquappen erst in diese Lösungen zu setzen. Auf die bei solchen Versuchen speziell zu beachtenden Verhältnisse wird erst später (im zweiten Kapitel) einzugehen sein.

Schon bei der Auflösung des Giftes in Serum hatten wir einen gewissen Erfolg, indem sich das Crotalusgift unter diesen Verhältnissen bedeutend wirksamer erwies. Unvergleichlich viel prägnanter fielen aber die Versuche aus, als wir Kaulquappen in Crotalusgiftlösungen setzten, zu denen vorher eine geringe Menge hämolysierter Blutkörperchen zugesetzt war. Die Toxizität der Crotalusgiftlösungen für Kaulquappen wird dadurch auf weit mehr als das Hundertfache erhöht und erreicht fast dieselbe Größenordnung wie die des Kobragiftes.

Es ist leicht zu erraten, wie unter den Bedingungen des natürlichen Bisses das Crotalusgift, bald nach dem erfolgten Bisse, mit Bestandteilen der hämolysierten Blutkörperchen reagieren kann in derselben Weise wie bei den soeben angedeuteten Versuchen mit Kaulquappen. Auf diesen Gegenstand können wir aber erst am Schlusse dieser Abhandlung näher eingehen.

Der Vergiftungsmechanismus bei der Wirkung von Crotalusgift ist also bedeutend komplizierter als der beim Kobragift, gleichgültig ob die neuerdings von Faust vertretene Ansicht, daß beide Gifte chemisch nahe verwandt sind, richtig ist oder nicht, denn die wässerigen Lösungen von Kobragift wirken ohne irgendwelche Zusätze, in außerordentlich

starker Verdünnung und in sehr kurzer Zeit auf Kaulquappen ein, und der Zusatz von Serum oder Blutkörperchen setzt die Toxizität der Lösungen herab, teils weil das Gift von den Blutkörperchen aufgenommen wird, teils wegen des Gehalts des Serums an Kalk- und Natriumsalzen, wie in unserer vorhergehenden Abhandlung gezeigt worden ist.

Trotz dieses sehr wichtigen Unterschieds in dem Wirkungsmechanismus von Crotalusgift und Kobragift werden wir sehen, daß Kalksalze (Calciumchlorid) auch die Toxizität der Crotalusgiftlösungen sehr stark herabsetzen, wenn auch freilich nicht so stark wie die von Kobragiftlösungen.

Noch überraschender erscheint es, wenn man die allerdings recht vagen Angaben in der Literatur über die Spezifizität der Antivenine berücksichtigt, daß, wie dies im letzten Kapitel bewiesen werden soll, dasselbe Antivenin, das wir bei den Versuchen mit Kobragift mit so großem Erfolg benutzten (vgl. unsere Kobra-Arbeit, Kap. 3), auch die Toxizität des Crotalusgiftes sehr stark herabsetzt.

Das von uns benutzte Antivenin stammt von dem Institut Pasteur in Lille und ist ziemlich sicher nur durch Immunisierung von Pferden durch Injektion von steigernden Mengen des Giftes von Kobra und vielleicht von einigen nahe verwandten Schlangenarten gewonnen worden, ohne daß Crotalusgift oder das Gift anderer Viperidae eingepritzt wurde[1]). Über diesen Gegenstand wird im dritten Kapitel weiter gehandelt werden.

Nach dieser allgemeinen Übersicht über die Punkte, die in dieser Abhandlung zur Untersuchung kommen, gehen wir zu einer mehr detaillierten Darstellung der Untersuchungsergebnisse und der dabei benutzten Versuchsanordnung über.

---

[1]) Inzwischen haben wir auf unsere briefliche Anfrage hin von Professor Calmette die freundliche Auskunft erhalten, daß das im Institut Pasteur in Lille dargestellte Antivenin, das in erster Linie für den Gebrauch in den französischen, ostindischen und afrikanischen Kolonien bestimmt ist, nur durch Immunisierung von Pferden mit den Giften der folgenden drei Schlangenarten: Naja tripudians, Naja haje und Bungarus fasciatus (= B. annularis Daud.) gewonnen wird, wobei das Gift von Naja tripudians in größter Menge verwandt wird. Die Gattung Bungarus ist mit Naja sehr nahe verwandt.

Der leichteren Übersicht wegen haben wir die Untersuchungsergebnisse in drei Kapiteln besprochen. Im ersten Kapitel sind die Versuche mit Kaulquappen in Lösungen von Crotalusgift in reinem Wasser, sowie einige Versuche an Kaninchen zur Bestimmung der Wirksamkeit unseres Crotalusgiftpräparates behandelt. — Im zweiten Kapitel berichten wir über die Versuche mit Kaulquappen in Lösungen von Crotalusgift in verdünntem Serum, oder in Lösungen, die außer Crotalusgift hämolysierte Blutkörperchen enthalten, oder die vor Einführung von Kaulquappen mit intakten Blutkörperchen in Wechselwirkung gewesen sind. Im dritten Kapitel endlich wird die entgiftende Wirkung von Calciumchlorid und Antivenin besprochen.

Kapitel I.

Über das Verhalten von Kaulquappen in wässerigen Lösungen von Crotalusgift und über Versuche an Kaninchen, die Wirksamkeit des benutzten Crotaluspräparates zu bestimmen.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, waren alle verdünnteren Lösungen von Crotalusgift ohne besondere Zusätze ganz ohne Wirkung auf Kaulquappen. Im folgenden sollen nur einige Versuche mit konzentrierten Lösungen kurz mitgeteilt werden.

Versuch 1: Verhalten von Kaulquappen in Lösungen von 1:2000 Crotalusgift.

Um 1^{00} p. m. des 20. IV. wurden 2 Kaulquappen von 9 bis 10 mm Länge in 4 ccm Crotalusgiftlösung von 1:2000 gesetzt.

Nach 7 Tagen waren die Kaulquappen immer noch normal beweglich, die Flimmerzellen der Haut noch mit Cilienspiel. Temp. am ersten Tage 17 bis 18° C, später 13 bis 15° C.

Versuch 2: Um 6^{45} p. m. des 15. V. wurden 4 Kaulquappen von 15 mm Länge in 20 ccm Crotalusgiftlösung von 1:2000 gesetzt.

Um 7^{15} p. m. und um 11^{50} p. m. des 16. V. alle Kaulquappen noch gut beweglich.

Um 11^{20} p. m. des 18. V., also nach mehr als 76 Stunden, 3 Kaulquappen gut beweglich, die 4. träge. Temp. zwischen 14 und 17° C. Vers. abgebrochen.

Versuch 3: Um 2^{00} p. m. des 20. IV. 3 Kaulquappen von 9 bis 10 mm Länge in 6 ccm Crotalusgiftlösung von 1:1000 gesetzt. Es fand keine Initialreizung statt wie bei konzentrierteren Lösungen von Kobragift; die Kaulquappen verhielten sich vielmehr völlig normal. Noch am 6. IV. waren die Kaulquappen gut beweglich, die Hautepithelien un-

beschädigt und die Cilien der Flimmerzellen mit normaler Bewegung. Da die Lösung in Fäulnis geraten war, wurde der Versuch darauf abgebrochen. Temp. zwischen 15 und 17° C.

Versuch 4: Um 6^{45} p. m. des 15. V. wurden 4 Kaulquappen von Rana fusca von 15 bis 16 mm Länge in 20 ccm Crotalusgiftlösung von 1:1000 gesetzt.

Um 12^{25} p. m. des 16. V. alle 4 noch lebend, aber etwas träge, ebenso um 11^{45} p. m. des 16.

Um 11^{50} a. m. des 17. V. eine Kaulquappe noch ziemlich gut beweglich und mit gut erhaltener Zirkulation. Hautepithelien kaum merklich angegriffen. Die 3 andern tot und ohne Zirkulation. Epidermis nur wenig angegriffen.

Am Morgen des 18. V. war auch die 4. Kaulquappe tot.

Versuch 5: Um 10^{25} a. m. des 6. V. wurden 4 Kaulquappen von Rana fusca (15 mm lang) in 1:400 frisch bereitete Crotalusgiftlösung gesetzt.

Um 2^{25} p. m. des 6. V. alle Kaulquappen noch beweglich, aber doch schon mehr oder weniger beeinflußt. Um 7^{30} p. m. des 6. alle tot.

Versuch 6: Um 2^{45} p. m. des 30. V. wurden 4 Kaulquappen von Rana fusca (16 bis 17 mm lang) in 20 ccm einer Crotalusgiftlösung von 1:400 gesetzt.

Um 4^{50} p. m. alle 4 noch beweglich, aber zwei recht träge (Temp. 20° C).

Um 5^{15} p. m. 2 Kaulquappen so gut wie völlig unerregbar, einzelne mikroskopische Zuckungen erfolgen zeitweise. Diese beiden zeigten unter dem Mikroskop keine eigentliche Zirkulation mehr, das direkt sichtbare Herz machte aber noch sehr schwache Contractionen. Hautepithelien bei der einen Kaulquappe kaum merklich, bei der andern etwas deutlicher angegriffen. Diese 2 Kaulquappen wurden um 5^{20} p. m. in reines Leitungswasser übergeführt, sie erholten sich indessen nicht.

Von den beiden andern Kaulquappen war die eine um 5^{15} p. m. noch ziemlich gut beweglich, die andere schon träge.

Um 8^{30} p. m. des 30. waren auch diese unerregbar und sahen angegriffen aus. Sie wurden in Leitungswasser überführt, erholten sich aber nicht.

Um die nachteiligen Wirkungen des Wassers auf die Kaulquappen nach Beschädigung der Hautepithelien zu hindern, wurde beim folgenden Versuch eine Salzlösung als Vehikel für das Crotalusgift verwendet.

Versuch 7: Um 12^{15} a. m. des 31. V. wurden 3 Kaulquappen von 16 mm Länge in ein Gemisch von 20 ccm 1:400 Crotalusgift in Wasser + 5 ccm 2,8 %ige NaCl + 5 ccm Ringerlösung (0,65 NaCl; 0,02 %ige KCl + 0,03 %ige $CaCl_2$) gesetzt. Die Lösung enthielt also 1:600 Crotalusgift neben ca. 0,6 %ige NaCl und eine Spur KCl und $CaCl_2$. Temp. 19° C.

Um 11^{00} a. m. des 31. V. (also nach $10^3/_4$ Stunden) war eine Kaulquappe noch etwas erregbar, die andern unerregbar, aber alle vorzüglich erhalten, wenn auch vielleicht etwas kleiner geworden (Verlust von

Lymphe). An den Hautepithelien der unerregbaren Kaulquappen mikroskopisch nichts Abnormales zu erkennen. Keine eigentliche Zirkulation mehr, doch wurden bei der einen Kaulquappe langsame und sehr schwache Herzcontractionen direkt gesehen.

Darauf (11^{05} a. m.) die drei unerregbaren Kaulquappen in mit etwas Wasser verdünnte Ringerlösung übergeführt.

Um 12^{05} p. m. des 31. V. war auch die 4. Kaulquappe gänzlich unerregbar und wurde ebenfalls in die verdünnte Ringerlösung übergeführt.

Um 9^{50} p. m. des 31. Alle Kaulquappen noch völlig unerregbar und keine Zirkulation zu erkennen, aber Hautepithelien und Muskeln vorzüglich erhalten. Querstreifung der Muskeln durchaus wie bei normalen lebenden Muskeln. — Auch in der Folge erholten sich die Kaulquappen nicht.

Aus den angeführten Versuchen ist ersichtlich, daß eine Lösung von 1:1000 die giftige Grenzkonzentration für Crotalusgift darstellt, bei der nach längerer Zeit die Kaulquappen bei genügender Menge der Lösung und bei nicht zu niedriger Temperatur getötet werden.

Im Vergleich mit Kobragift, das noch bei Konzentrationen von 1:1000000 Kaulquappen völlig narkotisiert und bei Konzentrationen von mehr als 1:400000 in recht kurzer Zeit die Hautepithelien stark angreift, ist Crotalusgift unter den in den bisher besprochenen Versuchen eingehaltenen Bedingungen nur äußerst wenig wirksam. Selbst bei der Überführung in Lösungen von 1:400 Crotalusgift zeigen Kaulquappen keine initiale Erregung, wie dies schon in der ersten Minute nach Überführung in konzentrierte Kobragiftlösungen (z. B. solche von 1:5000) erfolgt, obgleich bei Crotalusgift sonst die lokalen Schädigungen der Haut im Vergleich zu den resorptiven Wirkungen weit mehr in den Vordergrund treten als bei Kobragift.

Betreffs der resorptiven Wirkungen dieser beiden Gifte ist der Unterschied auch sehr bedeutend. Bei Anwendung von Kobragift kann man die Kaulquappen tagelang in völlig gelähmten Zustande, aber mit vorzüglich erhaltener Zirkulation, in den Giftlösungen halten, und nach der Überführung in reines Wasser erholen sich die Kaulquappen vollständig. Bei der Anwendung von Crotalusgift dagegen ist eine weitergehende Vergiftung nicht reversibel. Außerdem sistiert die Zirkulation sehr kurze Zeit, nachdem die Kaulquappen unerregbar geworden sind, und wird schon vorher recht schwach.

Als wir die sehr schwache Wirkung des Crotalusgiftes in reinem Wasser auf Kaulquappen zuerst konstatierten, lag natürlich der Verdacht nahe, daß unser Präparat, das nach Professor Flexners Mitteilung fünf Jahre alt war, durch die Aufbewahrung stark an Wirksamkeit verloren hatte. Zwar zeigte ein anderes Präparat, das wir der Güte Direktor Dr. Madsens verdanken, eine Wirksamkeit, die mit der des ersten übereinstimmte; nichts desto weniger haben wir es für notwendig erachtet, die Wirksamkeit des Crotalusgiftes (Flexners Präparat) an Kaninchen näher zu prüfen.

Versuche an Kaninchen, um die Wirksamkeit des Crotalusgiftpräparats festzustellen.

Versuch 1. Um 2^{27} p. m. des 22. IV. wurden 20 mg Crotalusgift in 2 ccm 0,9 %iger NaCl-Lösung gelöst, in eine Ohrvene eines 2200 g schweren Kaninchens injiziert. Starke Shockwirkung. Das Tier liegt unmittelbar nach der Injektion mit extendierten Extremitäten auf dem Bauche und reagiert wenig auf Berührung. Starke Salivation. Nach 5 Minuten fällt es auf die Seite. Um 2^{35} p. m. ist das Tier apatisch, somnolent. Respiration sehr schnell. Um 2^{40} p. m. unruhig, versucht vergebens sich aufzurichten. Um 2^{41} p. m. starke Konvulsionen, Geschrei und unmittelbar darauf sehr angestrengte, agonale Atmung. Um 2^{43} p. m., also 16 Minuten nach der Injektion, tritt der Tod ein. Bei der unmittelbar nach dem Tode ausgeführten Sektion schlägt noch das Herz während kurzer Zeit. Das Blut dunkel, ungeronnen.

Versuch 2. Um 5^{55} p. m. des 22. IV. wurden 15 mg Crotalusgift (in 1 ccm 0,85 % NaCl gelöst) in eine Ohrvene eines 2400 g schweren Kaninchens injiziert. Nach der Injektion ist das Tier somnolent. Liegt wie narkotisiert bis 6^{14} p. m., da Konvulsionen eintreten. Um 6^{20} p. m., also 25 Minuten nach der Injektion stirbt das Tier. Bei der Autopsie unmittelbar nach dem Tode schlägt das Herz noch kurze Zeit.

Versuch 3. Um 1^{15} p. m. des 4. V. wurden 10 mg Crotalusgift (in 1 ccm Wasser gelöst) in die Jugularis eines 2500 g schweren Kaninchen eingespritzt. Unmittelbar nach der Injektion ist das Tier etwas somnolent, erholt sich aber teilweise in der folgenden 1/2 Stunde. Um 6^{30} p. m. tritt Salivation unter etwas Unruhe ein. Bewegungen schwach. Um 7^{00} p. m. sind Paresen in die Hinterextremitäten und in der Kopfmuskultur deutlich ausgeprägt und treten in der folgenden 1/2 Stunde immer stärker hervor. Um 7^{38} p. m. treten Konvulsionen ein und 2 Minuten später, d. h 6 1/2 Stunden nach der Injektion des Giftes, erfolgt der Tod des Tieres.

Versuch 4. Um 2^{50} p. m. des 21. IV. bekam ein Kaninchen von 2400 g 4 mg Crotalusgift in eine Ohrvene. Nach der Injektion war das

Tier etwas träge, sonst keine sehr auffällige resorptive Symptome. Am nächsten Morgen war die Umgebung der Injektionsstelle blutig infiltriert. Das Blut an dieser Stelle war deutlich hämolysiert.

Versuch 5. Um 10^{45} a. m. des 17. V. injizierten wir 5 mg Crotalusgift (in 1 ccm 0,9% NaCl gelöst) in eine Ohrvene eines Kaninchens von 2900 g. Deutliche Shockwirkung, doch erholte sich das Tier nach und nach vollständig und zeigte in den folgenden Tagen keine resorptiven Symptome. (Doch enthielt der Harn etwas Eiweiß und Zucker.)

Nach den angeführten Versuchen lag die tödliche Minimaldose unseres Crotalusgiftpräparates für Kaninchen von ca. 2500 g Gewicht zwischen 5 und 10 mg bei intravenöser Injektion. E. Pick[1]) gibt die Minimaldose von Crotalusgift für Kaninchen von 1600 bis 2200 g zu 3,5 mg an, also etwas weniger. — Die minimale letale Dose des Kobragiftes pro Kilogramm Tier wäre nach Calmettes[2]) Angaben für verschiedene Tierarten 0,2 bis 7,0 mg. Ähnliche Unterschiede dürften auch bezüglich der Wirksamkeit der Crotalusgiftpräparate vorkommen.

Aber selbst unter der Voraussetzung, daß unser Crotalusgiftpräparat eine etwas geringere Giftigkeit als die Durchschnittspräparate besaß, schien zunächst ein gewaltiger Unterschied zwischen seiner Wirkung auf Kaninchen und auf Kaulquappen zu bestehen. Im Vergleiche mit Kobragift war unser Crotalusgiftpräparat für Kaninchen etwa 20 bis 50mal weniger giftig, gegenüber Kaulquappen schien es aber zunächst nach den bis jetzt mitgeteilten Versuchen 500 bis 1000mal weniger giftig als Kobragift.

Obgleich nun große Unterschiede in der Empfindlichkeit verschiedener Tierarten und Tierklassen für gewisse Gifte nichts Ungewöhnliches sind (man denke nur an Morphin), so war es uns doch unwahrscheinlich, besonders im Hinblick auf die Verhältnisse bei Kobragift, daß Crotalusgift so große Differenzen bezüglich seiner Wirksamkeit gegenüber Kaninchen und Kaulquappen aufweisen sollte. Wie dann schon in der Einleitung angedeutet wurde, klärten sich diese scheinbaren Unterschiede in der Folge auf. Diese Verhältnisse bilden das Thema des nun folgenden Kapitels.

---

[1]) E. Pick in Handb. d. Technik u. Methodik der Immunitätsforschung 1, 430, 1908.

[2]) Calmette, daselbst, S. 301.

Kapitel II.

Über das Verhalten von Kaulquappen in Lösungen von Crotalusgift in (verdünntem) Serum, in Lösungen, zu denen ein Zusatz von hämolysierten Blutkörperchen gegeben wurde, oder die mit intakten Blutkörperchen in Wechselwirkung gewesen waren.

In solchen Versuchen, bei denen Crotalusgift in Blutserum oder in einer Flüssigkeit, die hämolysierte Blutkörperchen enthält, gelöst wird und in diesen Formen auf Kaulquappen einwirken soll, sind verschiedene Facta, die in unserer Arbeit über die Wirkungen des Kobragiftes mitgeteilt sind, besonders zu beachten. Daselbst haben wir nämlich festgestellt, daß Ochsen- und Kalbsblutserum in frischem, unverändertem Zustande selber eine stark schädliche Wirkung auf Kaulquappen ausübt, eine Wirkung, die selbst bei ziemlich weitgehender Verdünnung, wenn auch hier natürlich langsamer, eintritt. In ganz unverdünntem Zustande wirken die Sera aller Säugetiere, insbesondere auf jüngere Kaulquappen, schon durch Wasserentziehung mehr oder weniger nachteilig ein, indem das Serum der Säugetiere einen beträchtlich höheren osmotischen Druck besitzt als das Blutplasma und die Lymphe von Kaulquappen. Der Einfluß dieser Verhältnisse wird aber schon durch Verdünnung von zwei Teilen Serum mit einem Teil Wasser aufgehoben. — Bei den Sera der meisten Säugetiere spielen andere Eigentümlichkeiten eine weit wichtigere Rolle, indem diese Sera gewisse Stoffe enthalten, die die Hautepithelien von Kaulquappen (auch von Fischen und manchen anderen Tieren) stark angreifen. Ohne diese Verhältnisse, die bei anderer Gelegenheit Gegenstand einer besonderen Mitteilung bilden sollen, hier eingehender zu erörtern, erwähnen wir an dieser Stelle nur, daß diese Sera die Zellen der äußeren Epidermisschicht so stark angreifen, daß eine Veränderung dieser Schicht schon nach ca. 20 Minuten mikroskopisch nachgewiesen werden kann, daß nach einiger Zeit die ganze äußere Epidermisschicht in toto oder in Fetzen abgelöst wird und daß inzwischen auch die innere Epidermisschicht angegriffen wird, ohne daß die Kaulquappen zunächst irgendwelche resorptive Wirkungen aufweisen und ohne daß ihr Bewegungsver-

mögen dadurch aufgehoben wird. Nach einigen Stunden, oder bei Verdünnung des Serums mit dem mehrfachen Volumen Wasser oder Salzlösung, erst nach 2 oder 3 Tagen gehen aber die Kaulquappen zugrunde. — Ähnliche Wirkungen wie Ochsenblutserum und in ungefähr gleichem Grade üben auch Schweineblutserum und Schafblutserum aus, während, wie in unserer Kobra-Arbeit bereits mitgeteilt wurde, Pferdeblutserum weit weniger wirksam ist. Wie ebenfalls in der genannten Arbeit festgestellt, werden diese Wirkungen durch Erwärmung der Sera auf 56 bis 58° C während ca. 40 bis 60 Minuten aufgehoben. Wahrscheinlich enthalten aber auch diese erhitzten Sera gewisse andere Stoffe, die erst nach längerer Zeit (meist 40 bis 50 Stunden) gewisse resorptive Wirkungen auf Kaulquappen ausüben. Da aber solche vorher erhitzten Sera ziemlich rasch in Fäulnis geraten, ist es meist schwer diese Wirkungen von denen der Fäulnisprodukte scharf zu trennen. In einigen Fällen aber traten resorptive Wirkungen an den Kaulquappen auf, die sich durch große Trägheit und durch schließliche Parese des Zentralnervensystems äußerten, zu einer Zeit, zu der die betreffenden Sera fast völlig geruchlos waren und nur sehr wenige Bakterien aufweisen.

Es müssen also bei Versuchen mit Kaulquappen in Lösungen von Crotalusgift in Sera diese vor oder nach dem Zusatz von Crotalusgift während ca. 1 Stunde auf 56 bis 58° C erhitzt werden und schließlich wenigstens so weit mit Wasser verdünnt werden, daß auf 2 Volumina Serum 1 Volumen Wasser kommt.

Wenn Kaulquappen ferner in eine Lösung gesetzt werden sollen, die hämolysierte Blutkörperchen enthält, so müssen die Blutkörperchen vor der Hämolyse sehr gut mit 0,9%iger Kochsalzlösung ausgewaschen werden, um das Blutserum so vollständig als möglich zu entfernen. In unseren Versuchen geschah dies meist in der Weise, daß eine genügende Menge Blut mit 0,9% NaCl versetzt wurde, die Mischung zentrifugiert, der erhaltene Blutkörperchenbrei mit ca. dem 8fachen Volumen 0,9%iger Kochsalzlösung geschüttelt, diese Suspension nochmals zentrifugiert und der Blutkörperchenbrei wiederum mit dem 8fachen Volumen 0,9%iger NaCl-Lösung geschüttelt wurde. Nach nochmaliger Zentrifugierung wurde

die zu den einzelnen Versuchen notwendige Menge Blutkörperchenbrei mittels einer Meßpipette abgemessen, durch eine genügende Wassermenge hämolysiert und mit den übrigen Bestandteilen der Lösung gemischt und je nach den besonderen Versuchszwecken mit Wasser oder Salzlösung bis zum gewünschten Volumen gebracht.

Das gute Auswaschen der Blutkörperchen vor der Hämolyse ist durchaus notwendig, da die nicht über 50° C erhitzte Sera der meisten Tiere schon in recht starker Verdünnung (z. B. mit dem 50fachen Volumen Wasser) Kaulquappen allmählich schädigen und dadurch Komplikationen in die Versuchsresultate einführen würden. Kaulquappen verhalten sich während vieler Stunden normal selbst in einem Gemisch von 1 Teil Blutkörperchenbrei auf 3 Teilen Wasser und noch länger in einem solchen von 1 T. Blutkörperchen auf 5 T. Wasser. In der Mehrzahl unserer Versuche wurde indessen nur 1 ccm Blutkörperchenbrei auf 20 oder 25 ccm der fertigen Versuchslösungen verwendet, da eine solche Menge Blutkörperchen bereits einen annähernd maximalen Effekt hatte und Kaulquappen im allgemeinen bei solchen geringen Zusätzen von Blutkörperchen zu reinem Wasser länger am Leben bleiben als bei größeren Zusätzen, so daß die vergleichenden Beobachtungen über das Verhalten der Kaulquappen in den Lösungen mit und ohne Zusatz von Crotalusgift bedeutend länger ausgedehnt werden können.

Um dem Eintreten von Sauerstoffmangel in den Lösungen infolge von Reduktionsvorgängen möglichst vorzubeugen, wurden die Lösungen, in die die Kaulquappen übergeführt werden sollten, in flache Krystallisierschalen von solchem Durchmesser gebracht, daß die Flüssigkeitsschicht nur eine Höhe von ca. 3 bis 4 mm besaß.

Daß das Arbeiten mit Systemen, die so leicht in Fäulnis geraten, wie es diese Serum oder hämolysierte Blutkörperchen enthaltenden Lösungen es sind, gewisse Schwierigkeiten mit sich führt, ist leicht ersichtlich, denn es ist unmöglich, Kaulquappen vor ihrer Überführung in die Versuchslösungen gänzlich zu sterilisieren. Bei Anwendung gut sterilisierter Gefäße und möglichst sauber gehaltenen Kaulquappen und bei Anstellung der Versuche bei nicht zu hoher Temperatur (womög-

lich unter 16° C) pflegen indessen Fäulnisprozesse von solchem Grade, daß sie die Versuchsergebnisse stören können, erst nach ca. 40 bis 50 Stunden einzutreten. Dies erschwert wohl die Bestimmung der niedrigsten Konzentrationen von Crotalusgift, die überhaupt eine ausgeprägte Wirkung haben, da die Wirkungen hier natürlich spät eintreten; bei etwas höheren Konzentrationen des Giftes sind sie aber ohne Bedeutung, da das Crotalusgift dann meist den Tod der Kaulquappen in wenigen bis 24 Stunden, also längere Zeit vor Eintreten von Fäulnisprozessen von Belang, verursacht. Es ist aber stets zweckmäßig, bei jeder Versuchsserie einen Kontrollversuch mit Kaulquappen in Serum, resp. in einer Lösung, die hämolysierte Blutkörperchen ohne Crotalusgift enthält, anzustellen. Dies wurde in unseren Versuchsserien ausnahmslos getan.

A. Versuche mit Kaulquappen in Lösungen von Crotalusgift in mit Wasser etwas verdünntem Serum.

Um 7^{30} p. m. des 4. V. wurden zunächst je 20 ccm Kalbsblutserum mit $\frac{3}{2} \times 1:2000$ und $\frac{3}{2} \times 1:4000$ Crotalusgift versetzt und im Thermostat bei 37° C $2^1/_2$ Stunden gelassen; darauf wurden die zwei Lösungen auf 56 bis 57° C während 1 Stunde erhitzt und nachher abgekühlt. Zu jeder dieser Proben wurden sodann je 10 ccm Wasser zugesetzt, so daß die Giftkonzentrationen 1:2000 (A) und 1:4000 (B) und die Volumina jeder Lösung 30 ccm betrugen. Außerdem wurden 20 ccm desselben Kalbserums ohne Crotalusgift während derselben Zeit auf 56 bis 57° erwärmt und mit 10 ccm Wasser verdünnt (C).

Um 12^{25} a. m. des 5. V. wurden je 4 Kaulquappen in diese 3 Proben gesetzt (Versuchstemperatur 14° C).

Um 10^{00} a. m. des 5. V. (also nach ca. $9^1/_2$ Stunden) 1 Kaulquappe in A völlig unerregbar, die 3 andern noch beweglich, aber träge; alle Kaulquappen in B und C völlig normal und besonders die in C lebhaft beweglich, die in B vielleicht etwas träger, jedoch nicht ausgeprägt.

Um 12^{45} p. m. des 5. V. ebenso, die unerregbare Kaulquappe zeigte noch ziemlich gute Zirkulation und die Hautepithelien waren nicht sichtbar angegriffen.

Um 4^{50} p. m. eine 2. Kaulquappe in A völlig unerregbar, eine 3. recht träge, die vierte etwas beweglicher.

Um 8^{00} p. m. des 5. V. alle Kaulquappen in A unerregbar und wahrscheinlich tot.

Um 11^{00} p. m., mikroskopisch untersucht, war die Zirkulation bei allen Kaulquappen in A erloschen.

Um 8^{05} p. m. des 5. V. alle Kaulquappen in, B recht träge.

Um 10^{30} p. m. des 5. V. alle Kaulquappen in B unerregbar. 2 Stunden später wurden die Kaulquappen in B mikroskopisch untersucht, die Zirkulation war bei allen bereits erloschen.

Um 4^{50} p. m., um 8^{00} p. m. und um 11^{00} p. m. des 5. V. waren alle Kaulquappen in C noch gut beweglich, ebenso um 12^{30} a. m. des 6. V.

Um 10^{45} a. m. des 6. V. alle Kaulquappen in C ebenfalls tot, Flüssigkeit mit merklichem Fäulnisgeruch.

Eine Anzahl weiterer Versuche gaben ähnliche Resultate. In Lösungen von 1:2000 Crotalusgift in (verdünntem) Serum verloren die Kaulquappen in 10 bis 16 Stunden immer die Erregbarkeit, in 1:4000 Crotalusgift in ca. 20 bis 24 Stunden. In einzelnen Fällen wurden innerhalb derselben Zeit Kaulquappen in noch etwas verdünnteren Lösungen des Crotalusgiftes unerregbar, aber nicht häufig. Ein vorheriges Erwärmen des Serums mit Crotalusgift bei 37° C zeigte sich als unnötig. Es ist möglich, daß durch das Erwärmen des Serums auf 56 bis 57° die Stoffe, die das Crotalusgift wirksamer machen teilweise zerstört werden; bei den meisten Sera ist aber ein °lches Erwärmen absolut notwendig, und selbst bei Anwendung von Pferdeblutserum wären die Resultate bei einer längeren Dauer des Versuchs ohne Erwärmung des Serums etwas zweideutig, da selbst dieses Serum ohne vorheriger Erwärmung über 50° C keineswegs gänzlich ohne spezifisch schädliche Wirkungen auf Kaulquappen ist.

Im Serum aufgelöst, wirkt also Crotalusgift zirka 3 bis 5mal stärker als wenn es bloß in Wasser aufgelöst wird, die Wirkungen sind in erster Linie resorptive, wobei aber die Zirkulation bald nach dem Eintreten von völliger Unerregbarkeit des Zentralnervensystems erlischt. Deut-

liche lokale Wirkungen auf die Hautepithelien fehlen. Eine Erholung der Kaulquappen nach Überführung in reines Wasser wurde nicht beobachtet, was bei der starken Einwirkung des Giftes auf die Zirkulation leicht verständlich ist.

B. Versuche mit Kaulquappen in Crotalusgiftlösungen, zu denen eine geringe Menge hämolysierter Blutkörperchen zugesetzt wurde.

Während die Erhöhung der Giftwirkung bei der Auflösung von Crotalusgift in Serum anstatt in Wasser keineswegs einen sehr auffallenden Grad erreicht und für sich allein nicht imstande wäre, die große Giftigkeit des Crotalusbisses zu erklären, ist die Zunahme der Toxizität des Crotalusgiftes durch Mischung mit hämolysierten Blutkörperchen so enorm, daß schon die gröbsten Versuche keinen Zweifel darüber lassen können. Einerseits wird die Minimalkonzentration, die z. B. den Tod von Kaulquappen innerhalb 12 Stunden verursacht, außerordentlich stark herabgesetzt. Andererseits treten die ersten Wirkungen noch bei recht verdünnten Lösungen schon sehr frühzeitig auf und haben einen anderen Charakter als bei der Anwendung von Lösungen in reinem Wasser oder in Serum. Da es so gut wie sicher ist, daß beim natürlichen Biß des Crotalus es gerade das durch gewisse Bestandteile der roten Blutkörperchen modifizierte Crotalusgift ist, das die Hauptwirkungen verursacht, mögen unsere Versuche über diese Verhältnisse in größerer Zahl mitgeteilt werden.

Versuch 1. Verhalten von Kaulquappen in 1:2000 Crotalusgift in Wasser + hämolysierten Blutkörperchen.

Es wurde zunächst 1 ccm zuvor mit Kochsalzlösung (vgl. einleitende Bemerkungen zu diesem Kapitel) ausgewaschener Blutkörperchenbrei von einem Ochsen mit 19 ccm Wasser versetzt und in der Mischung 10 mg Crotalusgift aufgelöst (A). Als Kontrollösung diente eine gleiche Mischung von Blutkörperchenbrei und Wasser ohne Crotalusgift (Lösung B). Beide Lösungen wurden zunächst während 2 Stunden auf 37° C im Thermostat erwärmt.

Um 3^{00} p. m. des 29. IV. wurden nach Abkühlung der Lösungen in jede 3 Kaulquappen gesetzt.

Um 5^{30} p. m. des 29. IV. 1 Kaulquappe in A schon unbeweglich und ohne Zirkulation, die 2 übrigen träge. Sämtliche deutlich lokal angegriffen (Desquamation der Hautepithelien), in B alle Kaulquappen normal.

Um 6^{30} p. m. eine 2., und um 7^{00} p. m. des 29. V. die 3. Kaulquappe in A unbeweglich mit starker Desquamation.

Am 30. IV. und um 10^{00} a. m. des 1. V. waren alle Kaulquappen in B noch normal beweglich und völlig gesund.

In den späteren Versuchen wurde eine vorherige Erwärmung der Lösung von Crotalusgift nicht mehr vorgenommen, da es sich als unnötig erwies.

Versuch 2. Verhalten in 1:5000 Crotalusgift + hämolysierten Blutkörperchen.

Um 2^{45} p. m. des 9. V. 1911 wurden 5 größere (ca. 15 mm lange) und 4 kleinere (13 mm) Kaulquappen von Rana fusca in 1 : 5000 Crotalusgift, das in einem Gemisch von 1 ccm Blutkörperchenbrei (Ochsen) + 24 ccm Wasser gelöst worden war, gesetzt (Lösung A). Gleichzeitig wurde dieselbe Anzahl Kaulquappen in ein Gemisch von 1 ccm Blutkörperchenbrei + 24 ccm Wasser ohne Crotalusgift gesetzt (B).

Schon um 5^{30} p. m. des 9. V. waren 8 Kaulquappen in A völlig unerregbar, die neunte nur noch wenig beweglich. Um 6^{30} p. m. des 9. V. mikroskopisch untersucht, zeigten sich die Schwanzgewebe äußerst stark angegriffen, Hautepithelien (auch des Rumpfes) völlig zerstört, Bindegewebszellen deformiert; die eine noch lebende Kaulquappe ebenfalls mit völlig zerstörten Hautepithelien, aber mit noch relativ gut erhaltener Zirkulation, selbst in den Capillaren der Schwanzflosse.

Um 7^{30} p. m. des 9. V. die 9. Kaulquappe in A tot (wohl seit längerer Zeit), alle Kaulquappen in B völlig gesund und lebhaft beweglich. Epithelien nicht im geringsten angegriffen.

Um 11^{10} a. m. des 11. V. alle Kaulquappen in B noch völlig gesund. Erst am 12. V. starben diese Kaulquappen, nachdem inzwischen ziemlich starke Fäulnis in der Lösung aufgetreten war.

Versuch 3. Verhalten von Kaulquappen in 1:10000 Crotalusgift in 1 ccm Blutkörperchenbrei (Ochsen) + 24 ccm Wasser.

Um 5^{50} p. m. des 9. V. 1911 wurden 4 größere (15 mm) und 4 kleinere Kaulquappen (13 mm) in diese Lösung gesetzt (A). T. 16° C. Schon vorher (um 2^{45} p. m.) wurde eine gleiche Anzahl Kaulquappen in ein Gemisch von 1 ccm Blutkörperchenbrei + 24 ccm Wasser ohne Zusatz von Crotalusgift gesetzt (B).

Um 7^{15} p. m. des 9. V. (also nach 85 Minuten) konnte bereits mikroskopisch eine deutliche, aber nicht sehr starke Veränderung der Hautepithelien der Kaulquappen in A wahrgenommen werden, indem die äußeren Epidermiszellen mehr oder weniger stark vorgewölbt und einige aus dem Verbande der übrigen Zellen herausgetreten waren. Alle Kaulquappen in A waren aber noch beweglich, die in B beweglich und völlig gesund.

Um 11^{15} p. m. des 9. V., also nach $5\frac{1}{2}$ Stunden, sind 7 Kaulquappen in A schon völlig unerregbar, die 8., die bald darauf starb, noch etwas beweglich. Die Hautepithelien sind sehr stark angegriffen, aber nur zum Teil abgestoßen. — Alle Kaulquappen in B lebhaft und völlig gesund. Diese Kaulquappen in B waren am 11. V. noch völlig gesund

und starben erst am 12. V., nachdem die Flüssigkeit bereits in stärkere Fäulnis geraten war.

Versuch 4. Verhalten von Kaulquappen in 1 : 30000 und 1:50000 Crotalusgift in Gemischen von 5 ccm Blutkörperchenbrei von einem Kalbe + 25 resp. 45 ccm Wasser.

Um 3[50] p. m. des 5. V. 4 Kaulquappen in 1 : 30000 Crotalusgift in 5 ccm Blutkörperchenbrei + 25 ccm Wasser (A) und 4 andere Kaulquappen in ein Gemisch von 1 : 50000 Crotalusgift in 5 ccm Blutkörperchenbrei + 45 ccm Wasser (B) gesetzt. Zur Kontrolle wurden noch 7 Kaulquappen in ein Gemisch von 10 ccm Blutkörperchenbrei + 30 ccm Wasser ohne Crotalusgift gebracht (C). Die Lösung C enthielt also die Bestandteile der Blutkörperchen in einer bedeutend höheren Konzentration als die Lösungen A und B.

Um 4[45] p. m. des 5. V., also bereits nach 1 Stunde, die Kaulquappen in A schon etwas träge (Temp. 14° C).

Um 12[30] a. m. des 6. V. (8 Stunden 46 Min. nach Beginn des Versuchs) alle Kaulquappen in A schon unerregbar, ebenso drei in B, die 4. Kaulquappe in B noch etwas beweglich, eine $^1/_2$ Stunde später war auch diese unerregbar.

Um 1[05] a. m. des 6. V. alle Kaulquappen in C noch normal beweglich und gesund. Selbst nach 20 Stunden waren 5 Kaulquappen in C noch gut beweglich, 2 aber unbeweglich. 6 Stunden später waren alle Kaulquappen in C tot.

Bei Anwendung so großer Mengen Blutkörperchenbrei in relativ geringen Mengen Wasser wie in Lösung C könnte man zunächst an eine Kaliumvergiftung der Kaulquappen denken, indessen handelt es sich wahrscheinlich um eine Erstickung der Kaulquappen infolge des Gehalts der Lösung an reduzierenden Substanzen. Eine 0,2 p. c. KCl-Lösung tötet Kaulquappen meist erst am 2. oder 3. Tage.

Die Lösung C wurde überhaupt nur angewandt, um zu zeigen, daß hämolysierte Blutkörperchen für sich allein selbst in weit größeren Konzentrationen, als sie je in Kombination mit Crotalusgift angewandt wurden, erst nach viel längerer Zeit eine schädliche Wirkung auf Kaulquappen ausüben können. Der größeren Sicherheit halber haben wir aber in allen anderen Versuchen bedeutend geringere Mengen Blutkörperchen benutzt als selbst in den Lösungen A und B.

Versuch 5. Verhalten von Kaulquappen in 1 : 100000 Crotalusgift in einem Gemisch von hämolysierten Blutkörperchen + Wasser.

Um 5[25] p. m. des 15. V. wurden 4 Kaulquappen in ein Gemisch von 2 ccm Blutkörperchenbrei + 48 ccm Wasser und soviel Crotalusgiftlösung gesetzt, daß die schließliche Konzentration des Crotalusgiftes im Gemisch 1 : 100000 betrug (A); 4 andere Kaulquappen in ein Gemisch von derselben Zusammensetzung, aber ohne Crotalusgift (B), gesetzt (Temp. um 20° C).

Um 11[55] p. m. des 15. V. Kaulquappen in A und B noch gut beweglich, die in A vielleicht etwas träger als in B.

Um 9^{00} a. m. des 16. V. (also in weniger als 16 Stunden) alle Kaulquappen in A tot, Hautepithelien mehr oder weniger stark angegriffen, Schwanz hakenförmig eingekrümmt. In B sämtliche Kaulquappen lebhaft beweglich und völlig normal aussehend. Erst am Abend des 17. V. waren 2 Kaulquappen in B gestorben, die anderen starben noch später, aber das Protokoll wurde nicht weitergeführt.

Versuchsserie 6. Kaulquappen in 1:200000 und 1:500000 Crotalusgift in Wasser + hämolysierten Blutkörperchen.

Um 6^{35} p. m. des 17. V. wurden folgende Versuche angestellt. Je 4 Kaulquappen wurden in:

A 1:200000 Crotalusgift in 2 ccm Blutkörperchenbrei + 48 ccm Wasser,
B 1:500000 „ „ 2 „ „ + 48 „ „
C 2 ccm Blutkörperchen + 48 cm Wasser ohne Crotalusgift
gesetzt. Temp. ca. 18° C.

Um 11^{30} p. m. des 17. V. die Kaulquappen in A etwas träge, die in B und C noch normal.

Um 9^{00} a. m. des 18. V. sind 2 Kaulquappen in A tot, eine dritte träge, die vierte ist noch ziemlich gut beweglich. Die Kaulquappen in B und C sind noch normal beweglich.

Um 10^{00} a. m. des 18. V. ist eine 3. Kaulquappe in A tot; die 4. Kaulquappe in A ist unbeweglich, aber zeigt noch ziemlich gut erhaltene Zirkulation; die Hautepithelien sind aber auch bei dieser schon angegriffen und zum Teil abgestoßen. Diese Kaulquappe wurde in reines Wasser übergeführt. Um 11^{15} a. m. war die Zirkulation bei ihr schon sehr träge und um 12^{30} p. m. bereits erloschen.

Um 5^{30} p. m. des 18. V. Kaulquappen in B und C noch gut beweglich und makroskopisch normal aussehend.

Um 11^{30} p m. des 18. V. 2 Kaulquappen in B unerregbar, zwei noch ganz gut beweglich. Kaulquappen in C noch beweglich.

Um 9^{00} a. m. des 19. V. 3 Kaulquappen in B tot, die Hautepithelien aber erst wenig angegriffen. In C 2 Kaulquappen noch ganz normal beweglich, zwei tot. Ebenso um 7^{00} p. m. des 19. V. Am nächsten Morgen alle Kaulquappen in C tot.

Aus dieser Versuchsserie ist leicht zu ersehen, daß 1:200000 Crotalusgift zusammen mit hämolysierten Blutkörperchen noch eine stark toxische Wirkung hat. Dagegen ist die Wirksamkeit von 1:500000 Crotalusgift nur sehr wenig ausgeprägt.

Weitere Versuche zeigten, daß 1:300000 Crotalusgift zusammen mit hämolysierten Blutkörperchen (im Verhältnis von 1 ccm Blutkörperchenbrei zu 24 ccm Wasser) Kaulquappen regelmäßig viel früher tötet als dasselbe Gemisch ohne Crotalusgift. Die Grenze der deutlichen Wirksamkeit des Crotalusgiftes unter diesen Umständen kann also

zu ca. 1:500000 gesetzt werden, jedenfalls liegt die Grenzkonzentration niedriger als 1:300000.

Die beiden folgenden Versuchsserien wurden angestellt, um bei gleichbleibenden Crotalusgiftmengen in den Lösungen den Einfluß der Menge des zugesetzten Blutkörperchenbreis zu zeigen.

Versuchsserie 7. Um 11^{55} p. m. des 5. V. wurden je 4 Kaulquappen in 1:10000 Crotalusgift, das in folgenden Gemischen aufgelöst war:

A	1 ccm	Kalbsblutkörperchenbrei	+ 19 ccm	Wasser
B	0,5 „	„	+ 19,5 „	„
C	0,2 „	„	+ 19,8 „	„
D	0,1 „	„	+ 19,9 „	„

gesetzt. Zur Kontrolle wurden gleichzeitig 4 weitere Kaulquappen in ein Gemisch von 1 ccm desselben Blutkörperchenbreis + 19 ccm Wasser ohne Crotalusgift gesetzt (E). Temp. während des Versuchs 14° C.

Um 10^{00} a. m. des 6. V. (also nach ca. 10 Stunden) alle Kaulquappen in A tot.

Um 10^{55} a. m. des 6. V. 2 Kaulquappen in B unerregbar, zwei noch beweglich, wenn berührt, aber recht träge; in C 3 Kaulquappen noch gut und spontan beweglich, eine tot. Alle Kaulquappen in D und E gut beweglich und völlig normal aussehend.

Um 2^{50} p. m. des 6. V. alle Kaulquappen in B tot (wohl seit längerer Zeit); nur noch eine Kaulquappe in C beweglich, die Kaulquappen in D und E alle noch gut beweglich.

Um 7^{00} p. m. des 6. V. alle Kaulquappen in C und D ebenfalls tot, die in E noch gut beweglich. Diese letzteren waren noch am folgenden Morgen gesund.

Versuchsserie 8. Es wurde zunächst 1 ccm Blutkörperchenbrei (von einem Ochsen), der vorher wie immer mit 0,9%iger NaCl-Lösung mehrmals ausgewaschen worden war, mit 39 ccm Wasser hämolysiert. Von dieser hämolysierten Flüssigkeit wurden:

A	20 ccm	mit	1 ccm	0,1%iger	Crotalusgift	+ 4 ccm Wasser,
B	4 „	„	1 „	0,1 „	„	+ 20 „ „
C	2 „	„	1 „	0,1 „	„	+ 22 „ „
D	1 „	„	1 „	0,1 „	„	+ 23 „ „

gemischt. Außerdem wurde 1 ccm desselben Blutkörperchenbreis mit 24 ccm Wasser hämolysiert, ohne Crotalusgift zuzusetzen (= E). Lösung A enthielt also 1:25000 Crotalusgift und $^1/_2$ ccm Blutkörperchenbrei, B, C und D ebenfalls 1:25000 Crotalusgift, aber nur bzw. 0,1, 0,05 und 0,025 ccm Blutkörperchenbrei oder richtiger dessen Bestandteile.

Um 11^{58} p. m. des 24. V. wurden je 4 Kaulquappen von ca. 17 mm Länge in jede dieser Lösungen gesetzt.

Um 10^{30} a. m. des 25. V. (also nach ca. $10^1/_2$ Stunden) alle Kaulquappen in A tot, Hautepithelien sowohl am Schwanze wie am Rumpfe

völlig zerstört, alle Gefäße im Schwanze ebenfalls zerstört, keine Querstreifung in den Muskelfasern des Schwanzes mehr erkennbar und selbst die Chordazellen mehr oder weniger affiziert. Blutkörperchen in den großen Blutgefäßen im Rumpfe hämolysiert. — In B 2 etwas kleinere Kaulquappen tot, die 2 größeren noch beweglich. Alle Kaulquappen in C, D und E noch völlig normal.

Um 12[30] p. m. des 26. V. eine Kaulquappe in B noch immer beweglich, die andern tot. Alle Kaulquappen in C und D völlig gesund, aber nur noch zwei in E beweglich (die Flüssigkeitsschicht war etwas zu hoch, und aus Unachtsamkeit war nicht für gelegentliche Bewegung der Flüssigkeit gesorgt worden).

Am Abend des 27. V. waren alle Kaulquappen in C und D noch immer gut beweglich und ebenso am Morgen des 28. V. Versuch abgebrochen.

Aus diesen Versuchen, die nur zur Orientierung dienen sollten, ist ersichtlich, daß die Menge der zugesetzten hämolysierten Blutkörperchen innerhalb gewisser Grenzen einen großen Einfluß auf die Toxizität des Crotalusgiftes ausübt, wie dies eigentlich von vornherein zu erwarten wäre. Weniger als 0,1 ccm Blutkörperchen in 25 ccm der Versuchsflüssigkeit erteilt einer Crotalusgiftlösung von 1 : 25000 nur noch eine geringe Toxizität, während Mengen zwischen 0,1 und 1 ccm Blutkörperchen die Toxizität in steigendem Grade stark erhöhen. Ausgedehntere quantitative Untersuchungen über diesen Gegenstand würden ein beträchtliches Interesse haben.

Das wichtigste Ergebnis der bisher in diesem Kapitel mitgeteilten Versuche ist die daraus hervorgehende außerordentliche Verstärkung der Toxizität des Crotalusgiftes bei Gegenwart gewisser Stoffe, die sich in einer Flüssigkeit, die hämolysierte Blutkörperchen enthält, befinden. Bei Hämolysierung von 1 ccm Blutkörperchenbrei mit 24 ccm Wasser und Auflösung einer geringen Menge Crotalusgift in dem resultierenden System wirkt das Crotalusgift mindestens 300 mal stärker als bei Auflösung desselben in reinem Wasser, und die Wirkung tritt schon bei Konzentrationen von 1 : 100000 und weniger noch recht rasch ein. Sehr auffallend sind auch die stark destruktiven Wirkungen dieser Kombination auf die Hautepithelien und andere Gewebe der Kaulquappen, namentlich bei Crotalusgiftkonzentrationen von mehr als 1 : 50000. Schon diese lokalen Wirkungen müßten unter den bisher eingehaltenen Versuchsbedingungen sehr bald den Tod der Kaulquappen ver-

ursachen, da nach der Zerstörung der Hautepithelien die Lymph- und Blutsalze der Kaulquappen in die umgebende Flüssigkeit exosmieren können, was seinerseits zu Wasserstarre und Tod der Muskeln und anderer Gewebe führen muß. In der Tat ist der rasche Tod und die Destruktion der Gewebe teilweise auf Konto der Wassereinwirkung zu setzen. Doch verändern sich die Gewebe von Kaulquappen in reinem Wasser nach dem Tode bei anderen Vergiftungen (z. B. infolge zu konzentrierter Ätherlösungen) bei weitem nicht so stark und so rasch wie in Gemischen von Crotalusgift und hämolysierten Blutkörperchen. Viel konzentriertere Lösungen von Crotalusgift in Serum verändern die Hautepithelien vor dem Tode der Kaulquappen nicht merklich; man erhält rein resorbtive Wirkungen, die sich durch Parese des Nervensystems und bald darauf folgende Lähmung des Herzens äußern, und auch bei der Vergiftung mit $^1/_4$%igen Lösungen von Crotalusgift in reinem Wasser treten die lokalen Wirkungen gegenüber den resorptiven zurück.

Um die Wasserwirkung nach Schädigung der Hautepithelien auszuschließen und die resorptiven Wirkungen reiner hervortreten zu lassen, wurden einige Versuche in der Weise ausgeführt, daß Crotalusgift zuerst mit durch reines Wasser hämolysierten Blutkörperchen zusammengebracht wurde, aber vor Einführung der Kaulquappen soviel Kochsalzlösung zugesetzt, daß die schließliche Lösung ca. 0,6%iges Kochsalz enthielt. In einigen Versuchen wurde eine solche Lösung noch mit etwas Ringer-Lösung gemischt, damit die Lymphe und das Blut der Kaulquappen nicht zu viel ihrer Calcium- und Kaliumsalze an die umspülende Lösung abgeben sollten. Eine solche Versuchsserie möge hier mitgeteilt werden.

Versuchsserie 9. Verhalten von Kaulquappen in 1:100000 und 1:200000 Crotalusgift in einem Gemisch von hämolysierten Blutkörperchen in 0,6%igem NaCl.

Es wurde:

A: 1 ccm Blutkörperchenbrei in 10 ccm Wasser hämolysiert und darauf 15 ccm 0,9%iges NaCl zugesetzt und soviel einer 0,1%igen Crotalusgiftlösung, daß die schließliche Crotalusgiftkonzentration 1:100000 betrug;

B: eine ähnliche Lösung bereitet, die aber nur 1:200000 Crotalusgift enthielt;

C: dieselbe Lösung ohne Crotalusgift zusammengestellt.

Um 6^{00} p. m. des 29. V. wurden je 4 Kaulquappen in diese Lösungen gesetzt.

Um 9^{30} a. m. des 30. V. alle Kaulquappen in A noch beweglich, aber geschrumpft, 3 Kaulquappen in B beweglich und normal aussehend, die vierte tot (jedenfalls durch einen Zufall), alle Kaulquappen in C völlig normal.

Um 10^{45} a. m. des 30. V. 3 Kaulquappen in A ohne Bewegungsvermögen, eine noch etwas beweglich. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich die Hautepithelienzellen etwas vorgewölbt und einzelne aus dem Verbande der andern herausgetreten, aber keine Ablösung von Zellgruppen. Zirkulation konnte weder bei den unerregbaren Kaulquappen, noch bei der etwas beweglichen Kaulquappe beobachtet werden. Darauf wurden die 3 unbeweglichen Kaulquappen in reine 0,5 %ige NaCl-Lösung übergeführt; um 12^{30} p. m. waren zwei von diesen ziemlich gut beweglich, aber die Zirkulation sehr schwach. Diese lebten noch einige Stunden, starben aber an demselben Tage.

Um 1^{15} p. m. alle Kaulquappen in B ohne das Vermögen, sich zu bewegen; unter dem Mikroskop waren einzelne Muskelzuckungen zu sehen, die Zirkulation war ganz oder fast erloschen. Kaulquappen etwas geschrumpft.

Um 1^{30} p. m. die Kaulquappen aus B in Ringer-Lösung übergeführt. Nach 2 Stunden konnten zwei derselben und später drei sich schwach bewegen. Die Bewegungen wurden stärker in den nächstfolgenden Stunden, aber am nächsten Tage waren die Kaulquappen tot. Die Kaulquappen in C verhielten sich vollkommen normal über 40 Stunden.

Die starke Schrumpfung der Kaulquappen in A und die später eintretende, aber schwächere Schrumpfung der Kaulquappen in B beruht auf einer Auspressung von Lymphe durch die beschädigten Hautepithelien.

In allen ähnlich angestellten Versuchen waren die Resultate im wesentlichen dieselben. Immer wurden die Hautepithelien mehr oder weniger beschädigt, aber bei Lösungen mit weniger als 1:50000 Crotalusgift meist nicht stark. Zu der Zeit, wo Unerregbarkeit der Kaulquappen eingetreten war, war die Zirkulation stets sehr schwach oder überhaupt nicht mehr wahrnehmbar. Nach Überführung in reines 0,6 %iges NaCl oder in Ringer-Lösung erholten sich die Kaulquappen nach längerer Zeit oft partiell, aber nie vollständig. Die Vergiftung war also nach Eintreten von vollständiger Unerregbarkeit nie in strengem Sinne vollkommen reversibel.

Wenn man eine Vergiftung von Kaulquappen durch Crotalusgift und durch Kobragift miteinander vergleicht, so ist natürlich der wesentlichste Unterschied der, daß Kobragift ohne weitere Zusätze schon in sehr verdünnten Lösungen sehr

starke Wirkungen ausübt, während Crotalusgift für sich allein sehr wenig wirksam ist und erst nach Wechselwirkung mit Bestandteilen von hämolysierten Blutkörperchen, „Lecithin“[1]) und dergleichen eine Wirksamkeit erlangt, die der des Kobragiftes nicht sehr weit nachsteht. — Außerdem wirkt aber Crotalusgift viel stärker auf das Herz ein, so daß es schon in den niedrigsten Konzentrationen, die vollständige Unerregbarkeit des Zentralnervensystems bewirken, gleichzeitig oder nur wenig später die Zirkulation aufhebt oder äußerst stark schwächt, und ebenso eine schädliche Wirkung auf die Hautepithelien ausübt. Infolge der beiden letzten Wirkungen ist eine weitergehende Vergiftung durch Crotalusgift nicht wie die durch Kobragift vollständig reversibel, wohl aber kann die Vergiftung nach Überführung der Kaulquappen in eine passende Salzlösung teilweise zurückgehen, wie besonders die zuletzt mitgeteilten Versuche zeigen.

Nach den Angaben in der Literatur sind Lösungen von Crotalusgift viel empfindlicher gegen hohe Temperaturen als Kobragiftlösungen; so gibt Faust an, daß die Giftigkeit des Sekretes von Bothrops, Crotalus, Vipern beim Erwärmen auf 80 bis 85° C (unter wie langer Zeit?) vollkommen vernichtet wird[2]). Der folgende Versuch bestätigt die große Empfindlichkeit von Crotalusgift gegen hohe Temperatur.

Versuchsserie 10. 2 ccm einer 0,1 %igen Crotalusgiftlösung wurden mit 25 ccm Wasser gemischt und die Lösung für einen Augenblick aufgekocht. Nach dem Abkühlen wurde 1 ccm Blutkörperchenbrei zugesetzt = Lösung A.

Gleichzeitig wurden 0,5 ccm einer 0,1 %igen Crotalusgiftlösung mit 25 ccm Wasser gemischt, aber die Lösung nicht erwärmt; auch zu dieser Lösung wurde 1 ccm Blutkörperchenbrei zugesetzt (Lösung B).

In jede der beiden Lösungen wurden 4 Kaulquappen gesetzt.

Nach 6 Stunden waren 2 Kaulquappen in B schon tot, die 2 übrigen nach 15 Stunden. In A waren alle Kaulquappen nach 7 Stunden noch gut beweglich. ebenso 2 nach 27 Stunden und 1 nach mehr als 30 Stunden, obgleich das Crotalusgift in A ca. 4 mal konzentrierter war als in B.

Das Crotalusgift scheint aber durch das momentane Aufkochen nicht ganz vollständig zerstört worden zu sein.

Endlich wurden einige Versuche mit Crotalusgift in der Weise ausgeführt, daß eine konzentrierte Lösung von Crotalus-

---

1) Vgl. Schlußbetrachtungen.

2) Faust, Die tierischen Gifte. Braunschweig 1906. S. 59.

gift in 0,9 %igem NaCl entweder zu Vollblut oder zu einer Suspension von Blutkörperchen in 0,9 %iger Kochsalzlösung zugesetzt wurde und das Gemisch während ca. 2 Stunden im Thermostat bei 37° C gelassen. Die Konzentration des Crotalusgiftes nach der Mischung war zu gering, um Hämolyse zu bewirken. Nachher wurden die Gemische zentrifugiert, mit dem halben Volumen Wasser verdünnt und, im Falle wo Vollblut benutzt wurde, das Serum auf 56° C erwärmt. Zuletzt wurden Kaulquappen in die Lösungen gesetzt. Diese Versuche führten indessen zu keinen leicht deutbaren Resultaten. Wahrscheinlich ist ein großer Teil des Giftes von den Blutkörperchen zurückbehalten worden. Dies hätte durch nachträglichen Zusatz von hämolysierten Blutkörperchen zu den abzentrifugierten Lösungen entschieden werden können, da, wenn noch eine ganz geringe Menge des Crotalusgiftes sich in den Lösungen befunden hätte, diese dadurch eine hohe Toxizität gewinnen mußten. Leider wurde erst zu spät an diese Art, die Lösungen zu prüfen, gedacht. Wir gehen daher auf diese Versuche nicht ein.

Kapitel III.

Über die Aufhebung resp. die starke Abschwächung von Crotalusgiftlösungen durch Calciumsalze und durch Antivenin.

In unserer Arbeit über die Wirkungen des Kobragiftes wurde gezeigt, daß die Toxizität der Kobragiftlösungen durch Zusatz von Calciumsalzen sehr stark herabgesetzt wird. Bei Gegenwart von 0,5 % $CaCl_2$ in den Versuchslösungen mußte man die Kobragiftkonzentration mehr als 100 mal höher nehmen, um dieselbe Wirkung zu erzielen wie durch Kobragiftlösungen ohne Gegenwart von Kalksalzen.

Es schien uns von großem Interesse, zu untersuchen, ob Calciumchlorid auch die Toxizität von Crotalusgiftlösungen herabsetzt. Dies wurde an solchen Lösungen geprüft, zu denen hämolysierte Blutkörperchen gesetzt wurden, da diese die weitaus giftigsten sind und den natürlichen Verhältnissen bei einem Crotalusbiß entsprechen.

Versuchsserie 1. Einfluß von 0,2 % $CaCl_2$ auf die Toxizität von Crotalusgiftlösungen.

Um 9^{45} p. m. des 26. V. wurden je 4 Kaulquappen von etwas ungleicher Größe (15 bis 18 mm), 2 große und 2 kleinere, in:

A 1 ccm gut ausgewaschenen Blutkörperchenbrei[1]) (Kalb) + $2^1/_2$ ccm 0,1 %iges Crotalusgift + $2^1/_2$ ccm 2 %iges $CaCl_2$ + 19 ccm Wasser,

B 1 ccm desselben Blutkörperchenbreis + 1 ccm 0,1 %iges Crotalusgift + $2^1/_2$ ccm 2 %iges $CaCl_2$ + $20^1/_2$ ccm Wasser,

C 1 ccm Blutkörperchenbrei + 0,625 ccm 0,1 %iges Crotalusgift + $2^1/_2$ ccm 2 %iges $CaCl_2$ + 21 ccm Wasser,

D 1 ccm Blutkörperchenbrei + 0,25 ccm 0,1 %iges Crotalusgift + 23,75 ccm Wasser **ohne Zusatz von Calciumchlorid** gesetzt.

Die **Crotalusgiftkonzentration** in den fertigen Versuchslösungen entspricht in A 1:10000, in B 1:25000, in C 1:40000, in D 1:100000; die **Konzentration des Calciumchlorids** in A, B und C beträgt 0,2 %.

Um 12^{15} p. m. des 27. V. (also nach $14^1/_2$ Stunden) sind alle Kaulquappen in A und B noch beweglich, doch die in A, besonders die kleinen, deutlich affiziert, 1 Kaulquappe in C (sicher durch einen Zufall) gestorben, die 3 anderen völlig normal beweglich und sehr gesund aussehend. Alle Kaulquappen in D schon tot.

Um 2^{45} p. m. des 27. V. 2 Kaulquappen in A unbeweglich und ohne Zirkulation, 1 Kaulquappe recht träge mit nur 60 Pulsschlägen in der Minute (statt ca. 90) und etwas angegriffenen Epidermiszellen. Alle Kaulquappen in B noch gesund, ebenso die 3 in C.

Um 5^{45} p. m. des 27. V. nur noch 1 Kaulquappe in A beweglich, und diese recht schwerfällig.

Um 8^{00} p. m. des 27. V. alle Kaulquappen in A tot, alle in B und die 3 in C gut beweglich und gesund aussehend.

Um 11^{30} a. m. des 28. V. 2 Kaulquappen in B noch beweglich, aber nicht mehr ganz normal, Epidermiszellen etwas affiziert, einzelne aus dem Verbande der übrigen Zellen ausgetreten. Zirkulation noch gut. Die 3 Kaulquappen in C noch normal beweglich. Versuch abgebrochen.

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß die Gegenwart **von** 0,2 % $CaCl_2$ in der Versuchslösung Kaulquappen vor den Wirkungen von 1:40000 Crotalusgift **völlig**, von 1:25000 **größtenteils**, dagegen von 1:10000 **nicht genügend** schützt, während 1:100000 Crotalusgift unter denselben Bedingungen, **aber ohne Gegenwart von Calciumsalzen**, den Tod rasch und, wie aus früher mitgeteilten Versuchen hervorgeht, selbst in Lösungen von 1:300000 vor Verlauf von 24 Stunden bewirkt.

Versuchsserie 2. Einfluß von 0,2 und 0,05 % $CaCl_2$ auf die Toxizität von Crotalusgiftlösungen.

---

[1]) Über die Auswaschung dieses Breies s. Einleitung zu Kap. II S. 439.

Es wurden 4 Lösungen von je 50 ccm derart bereitet, daß

A 2 ccm Blutkörperchenbrei und 1:200000 Crotalusgift,
B 2 „ „ neben 1:50000 „ und 1:2000 $CaCl_2$,
C 2 „ „ „ 1:50000 „ „ 1:500 $CaCl_2$,
D 2 „ „ ohne Crotalusgift und ohne $CaCl_2$

enthielt.

Um 6[33] p. m. des 17. V. wurden je 4 Kaulquappen in diese Lösungen gesetzt.

Um 9[00] a. m. des 18. V. in A 2 Kaulquappen tot, 1 Kaulquappe träge, 1 noch beweglich; in B sind 2 Kaulquappen tot, 2 noch gut beweglich; in C und D alle Kaulquappen gut beweglich und gesund aussehend.

Um 10[00] a. m. des 18. V. in A 3 Kaulquappen tot, die 4. unbeweglich. In B, C und D wie um 9[00] a. m.

Um 12[30] p. m. alle Kaulquappen in A und B tot.

Die Kaulquappen in C und D waren noch am Abend des 19. V. beweglich und gesund. Am 20. V. war Fäulnis eingetreten und die Kaulquappen starben im Laufe des Tages.

Man sieht aus dieser Versuchsserie, daß 0,05% $CaCl_2$ die Giftwirkung von 1:50000 Crotalusgift wohl abschwächt, aber nicht aufhebt, daß aber 0,2% $CaCl_2$ die Giftwirkung völlig aufhebt.

Aus diesen und anderen Versuchen ergibt sich, daß bei Gegenwart von 0,2% $CaCl_2$ in der Versuchslösung die Konzentration des Crotalusgiftes mehr als 10mal höher genommen werden muß, um Kaulquappen zu vergiften, als bei Abwesenheit von Kalksalzen in der Lösung. Die Herabsetzung der Giftigkeit ist also sehr beträchtlich, obgleich nicht so stark wie beim Kobragift. Es wird nicht nur die resorptive, sondern auch die lokale Wirkung des Crotalusgiftes aufgehoben resp. abgeschwächt.

Über die Wirkung von Antivenin.

In unserer Kobra-Arbeit zeigten wir, daß Kaulquappen vortreffliche Versuchsobjekte sind, um die Wirkung des Antivenins zu demonstrieren und um die quantitativen Verhältnisse bei der Entgiftung von Kobragiftlösungen festzustellen.

Unser Antiveninpräparat war das eingetrocknete „Serum antivenineaux" des Instituts Pasteur in Lille, das durch Behandlung von Pferden mit steigenden Dosen des Giftes von Naja tripudians, Naja haje und Bungarus fasciatus gewonnen wird[1]). Diese drei Schlangenarten gehören alle zu der Gruppe

[1]) Vgl. die Fußnote S. 431.

der Colubridae venenosae oder spezieller zu den Elapinae und sind unter sich nahe verwandt, dagegen so weit entfernt von Crotalus, wie irgendeine Giftschlange es sein kann; wie wir gesehen haben, sind die Symptome der Vergiftung und der Vergiftungsmechanismus andere als bei Kobragift. In der neueren Literatur wird auch immer angenommen, daß die Antivenine nur spezifische Wirkungen haben, so sagt Faust[1]): „Die anfängliche Annahme, daß das Serum eines gegen Kobragift immunisierten Tieres .... auch gegen die Wirkungen von Schlangengiften im allgemeinen schützen könne, hat sich als Irrtum erwiesen.“ Faust hat indessen keine Belege hierfür mitgeteilt und diese Ansicht dürfte sich nur aus mißverstandenen Beobachtungen gebildet haben. Jedenfalls beweisen die folgenden Versuche mit aller Bestimmtheit, daß das Serum antivenineaux aus dem Institut in Lille gegen Crotalusgift wirksam ist, und zwar kaum weniger als gegen Kobragift, wenn die Versuche in leicht übersichtlicher Form ausgeführt werden, wie dies bei Kaulquappen (oder Fischen) möglich ist.

Versuchsserie I. Einfluß von 0,2, 0,6 und 1% Antivenin auf die Toxizität von Crotalusgiftlösungen von 1:50000.

Es wurden zunächst folgende Mischungen bereitet:

A 1 ccm Ochsenblutkörperchenbrei + 23½ ccm Wasser + 0,5 ccm 0,1%iges Crotalusgift,

B 1 ccm Ochsenblutkörperchenbrei + 22½ ccm Wasser + 0,5 ccm 0,1%iges Crotalusgift + 1 ccm 5%iges Antivenin,

C 1 ccm Ochsenblutkörperchenbrei + 20½ ccm Wasser + 0,5 ccm 0,1%iges Crotalusgift + 3 ccm 5%iges Antivenin,

D 1 ccm Ochsenblutkörperchenbrei + 18½ ccm Wasser + 0,5 ccm 0,1%iges Crotalusgift + 5 ccm 5%iges Antivenin.

Diese Gemische wurden zunächst bei 18° C während 2 Stunden stehen gelassen und darauf um 6^{00} p. m. des 22. V. je 4 Kaulquappen in dieselben gesetzt.

Um 10^{30} p. m. des 22. V. 2 Kaulquappen in A noch gut beweglich, 2 unbeweglich und ohne Zirkulation. In B, C und D alle Kaulquappen gut beweglich und normal aussehend.

Um 11^{58} p. m. des 22. V. 2 Kaulquappen in A noch immer etwas beweglich, aber Bewegungen kraftlos; mikroskopisch untersucht, zeigen sich die Epidermiszellen etwas angegriffen. Alle Kaulquappen in B, C und D normal.

---

[1]) Die tierischen Gifte, S. 80.

Um 12^{40} p. m. des 23. V. alle Kaulquappen in A tot; die in B, C und D alle lebend, ebenso um 5^{30} p. m.

Um 8^{00} p. m. die Kaulquappen in B und C alle gut beweglich, in D 1 Kaulquappe gut beweglich, die 3 übrigen unerregbar (Menge des Antiveninserums wahrscheinlich zu hoch).

Um 11^{35} p. m. alle Kaulquappen in B normal, in C 1 Kaulquappe gut beweglich, 3 unerregbar. Deutlicher Fäulnisgeruch schon vorhanden.

In B war noch am 29. V. 1 Kaulquappe beweglich, da aber alle Lösungen stark faul rochen, wurde die Versuchsserie abgebrochen.

Versuchsserie 2. Einfluß von 0,2% Antivenin auf die Toxizität von Crotalusgiftlösungen von 1:10000 und 1:25000.

Es wurden 4 Gemische bereitet, die in je 25 ccm neben 1 ccm Blutkörperchenbrei enthielten:

A 1 : 10000 Crotalusgift und 0,2% Antiveninserum,
B 1 : 25000 „ „ 0,2% „
C 1 : 25000 „ ohne Antiveninserum,
D nur 1 ccm Blutkörperchenbrei in 24 ccm Wasser hämolysiert (also ohne Crotalusgift und Antiveninserum).

Um 1^{30} p. m. des 24. V. wurden 4 Kaulquappen in A, B und D, 5 Kaulquappen in C gesetzt.

Um 5^{30} p. m. des 24. V. alle Kaulquappen in A, B und D normal, in C 4 Kaulquappen träge und 1 tot.

Um 11^{55} p. m. des 24. V. alle Kaulquappen in A, B und D gut beweglich und gesund aussehend, in C nur noch 1 mit einer Spur Beweglichkeit, und auch diese sehr schlecht aussehend, wird zweifellos innerhalb 1 Stunde sterben.

Um 9^{35} a. m. des 25. V. alle Kaulquappen in C tot und stark desorganisiert, in A, B und D alle Kaulquappen normal beweglich.

Um 1^{00} p. m. des 25. V. in A 1 Kaulquappe (die größte) noch gut beweglich, 3 unbeweglich; von letzteren war bei der einen noch Zirkulation vorhanden. Diese wurde in 0,6%iges NaCl übergeführt und erholte sich teilweise nach einigen Stunden, starb aber am folgenden Tage.

Um 1^{00} p. m. des 25. V. waren 2 Kaulquappen in B gut beweglich, ebenso die Kaulquappe in D.

Um 11^{15} p. m. des 25. V. und um 1^{25} a. m. des 26. V. Kaulquappen in B und D wie um 1^{00} p. m. des 25. V. Die Lösungen beginnen zu riechen.

Um 10^{30} a. m. des 26. V. alle Kaulquappen in A und B tot, in D 1 noch beweglich; starker Fäulnisgeruch.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß ein Gehalt von 0,2% Antiveninserum in den Versuchslösungen die Toxizität von 1:50000 Crotalusgift aufhebt, von 1:25000 mindestens sehr stark abschwächt, aber nicht genügend groß ist, um die Toxizität von 1:10000 Crotalusgift aufzuheben. Das Eintreten von Fäulnisprozessen infolge des

notwendigen Zusatzes hämolysierter Blutkörperchen macht freilich die Fortsetzung der Versuche während mehrerer Tage unmöglich; doch ist das Verhalten der Kaulquappen während der ersten 24 bis 30 Stunden vollständig beweisend für die starke Wirksamkeit des Antivenins.

Daß bei einem Crotalusbisse die Injektion von Antiveninserum gegen die lokalen Wirkungen wenig wirksam sein kann, ist leicht verständlich, da bei deren großer Ausdehnung das Antivenin, das sich außerhalb des Gefäßsystems befindet, das Gift nur schwer erreichen wird.

Schlußbetrachtungen.

In den vorangehenden Versuchen haben wir uns mit der Feststellung einer Reihe wichtiger Facta bezüglich der Vergiftung durch Crotalusgift begnügt, ohne uns in hypothetische Deutungen derselben einzulassen. Auch in den folgenden Versuchen und Betrachtungen werden wir uns in dieser Beziehung sehr große Einschränkung auferlegen und nur einige Andeutungen machen.

Eine der ersten Fragen, die sich aufdrängt, ist die, welcher Bestandteil der roten Blutkörperchen dem Crotalusgift die so sehr erhöhte Toxizität verleiht und auf welche Weise dies geschieht. Was den ersten Teil der Frage betrifft, so hat man gute Gründe für die Annahme, daß ein Blutkörperchenphosphatid oder ein Spaltprodukt davon diesen Bestandteil darstellt. Wenn man nämlich einer wässerigen Lösung von Crotalusgift eine geringe Menge einer alkoholischen Lösung von Mercks neuestem „Lecithinpräparat" zusetzt (andere Präparate haben wir bisher nicht geprüft), so wird die Wirksamkeit des Crotalusgifts ebenfalls enorm gesteigert und die Vergiftungssymptome sind denen nach Zusatz von hämolysierten Blutkörperchen sehr ähnlich, sowohl bezüglich der resorptiven als auch der lokalen Wirkungen.

Bezüglich des in den folgenden Versuchen benutzten „Lecithinpräparates" ist vorauszuschicken, daß es erst kürzlich von E. Merck in den Handel gebracht wird und nach Mercks Angaben nach einer neuen Methode dargestellt wird, bei der keine eingreifenden Manipulationen und insbesondere keine Schwermetallsalze (Kadmium) zur Verwendung kommen.

Der größte Teil des Präparats zeigte sich indessen relativ leicht löslich in Aceton, was den Eigenschaften eines typischen Lecithins nicht entspricht. Dieses Präparat zeigte sich bedeutend weniger giftig für Kaulquappen als das Präparat, das in unserer Kobra-Arbeit zur Anwendung kam. Bei Temperaturen von 14 bis 17° C z. B. lebten 15 bis 17 mm lange Kaulquappen von Rana fusca in Suspensionen desselben in Wasser von 1:2000 50 bis 70 Stunden, in Suspensionen von 1:4000 lebten die meisten Kaulquappen über eine Woche, doch waren die Epidermiszellen der Kaulquappen selbst in den letztgenannten Suspensionen nach 50 Stunden oder weniger merklich affiziert (aber nicht getötet), was sich durch eine stärkere Vorwölbung der Außenflächen und durch eine Neigung einzelner Epidermiszellen, aus dem Verbande der andern zu treten, zu erkennen gab. Die starke Erhöhung der Toxizität von Crotalusgiftlösungen durch Zusatz kleiner Mengen dieses Präparats zeigen die folgenden Versuche sehr deutlich.

Versuchsserie 1. Um 7⁵⁰ p. m. des 14. V. 1911 wurden je 4 Kaulquappen in die folgenden Lösungen gesetzt:

A 3 ccm 0,2%iges Crotalusgift + 0,08 ccm 10%iges Lecithin (in Äthylalkohol) + 27 ccm Aq. dest.

B 2 ccm 0,2%iges Crotalusgift + 0,1 ccm 10%iges Lecithin + 38 ccm Aq. dest.

C 0,2 ccm 10%iges Lecithin + 40 ccm Aq. dest.

D 0,1 „ „ „ + 40 „ „ „

A enthält also 1:5000 Crotalusgift und ca. 1:5000 Lecithin, B 1:10000 Crotalusgift und ca. 1:5000 Lecithin, C ca. 1:2500 und D ca. 1:5000 Lecithin[1]).

Um 12^{40} a. m. des 15. V., also bereits nach weniger als 5 Stunden, waren alle Kaulquappen in A und B tot und ihre Gewebe sehr stark desorganisiert. Alle Kaulqappen in C und D sehr lebhaft beweglich. Am Abend des 16. waren noch alle Kaulquappen in C und D gut beweglich, am Morgen des 17. noch 2 in C und alle in D gut beweglich. Am Abend des 17. alle Kaulquappen in C tot, die in D noch lebend. Am 23. Mai waren noch 2 Kaulquappen in D lebend (Versuchstemperatur zwischen 14 und 17° C).

Versuchsserie 2. Es wurden folgende Gemische bereitet:

A 1:50000 Crotalusgift + 1:4000 Lecithin in 50 ccm Wasser,

B 1:100000 „ + 1;4000 „ „ 50 „ „

C 1:4000 Lecithin ohne Crotalusgift in 50 ccm Wasser.

Um 6^{15} p. m. des 15. V. wurden 4 Kaulquappen in A und B, 5 Kaulquappen in C eingesetzt (Temp. 20° C).

Um 9^{00} a. m. des 16. V. waren alle Kaulquappen in A, B und C noch beweglich und fast normal aussehend (makroskopisch).

---

[1]) Bei Berücksichtigung des spezifischen Gewichts von Äthylalkohol (ca. 0,8).

Um 2^{00} p. m. des 16. Kaulquappen in A träge, weniger die in B.

Um 11^{30} p. m. 2 Kaulquappen in A tot, die 2 anderen sehr träge; die Kaulquappen in B ziemlich träge; die in C alle lebhaft beweglich.

Um 9^{00} a. m. des 17. V. waren alle Kaulquappen in A und 3 in B tot, die 4. in B sehr träge; diese starb im Laufe des Tages. Die Kaulquappen in C waren noch am 20. V. lebend, als der Versuch abgebrochen wurde.

Diese Erhöhung der Wirksamkeit von Crotalusgift durch „Lecithin" erinnert an die Zunahme des hämolytischen Vermögens von Kobragift gegenüber den in einer Kochsalzlösung suspendierten Blutkörperchen, die von Kyes aufgedeckt wurde.

Solange die Chemie der Phosphatide in einem so chaotischen Zustande sich befindet wie zurzeit, ist es zwecklos, über die Natur des Reaktionsproduktes von Crotalusgift und Phosphatiden zu spekulieren.

Auch die Frage, ob dieses Reaktionsprodukt nur daher stärker wirkt, weil es leichter in die lebenden Zellen eindringt als das ursprüngliche Crotalusgift, oder ob es wirklich reaktionsfähiger gegen gewisse Bestandteile der Zellen ist, läßt sich zurzeit nicht mit Bestimmtheit beantworten. Namentlich erschwert die lokale Wirksamkeit des Crotalusgifts die Beantwortung dieser Frage. Der Umstand, daß bei einer Konzentration von Crotalusgift in reinem Wasser von 1 : 400 das Gift schon in wenigen Stunden Kaulquappen tötet, in 1 : 2000 selbst nicht nach vielen Tagen, spricht indessen zugunsten der zweiten Alternative.

Der Umstand, daß die Wirksamkeit der Gifte von soweit auseinander stehenden Giftschlangen wie die Kobra und die Klapperschlange beide durch Kalksalze und durch dasselbe Antiveninserum aufgehoben oder geschwächt wird, läßt es nicht unwahrscheinlich erscheinen, daß dies für die meisten oder für alle Giftschlangen gelten wird, wenn auch wohl im ungleichen Grade; auch der Mechanismus der Vergiftung durch andere Schlangen dürfte sich bald mehr dem des Kobragifts, bald dem des Crotalusgifts nähern.

Die Frage liegt auch sehr nahe, ob nicht bei einem Teil der Gifte der pathogenen Mikroorganismen analoge Verhältnisse vorliegen wie bei Crotalusgift, ob sie also nicht erst ihre volle Wirksamkeit nach Wechselwirkung mit einer Substanz x (oder Substanzen) erhalten, die zu den normalen Bestand-

teilen des gebissenen Tieres gehört. Wenn man annehmen würde, daß dieses x in jedem beliebigen Augenblick nur in äußerst geringen Mengen im Tierkörper vorkommt, aber im Stoffwechsel fortwährend neu gebildet wird, so würde dies vielleicht gewisse Eigentümlichkeiten bezüglich der Inkubationszeiten erklären, indem eine zur Aktivierung des betreffenden Giftes hinreichende Menge von x erst im Laufe längerer Zeit vom Organismus gebildet werden könnte. Auch ein Teil der Erscheinungen der Anaphylaxie würde vielleicht von ähnlichen Gesichtspunkten aus verständlicher erscheinen.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Eine Lösung von getrocknetem Crotalusgift (Klapperschlangengift) in reinem Wasser wirkt auf Kaulquappen erst bei Konzentrationen von $1\,^0/_{00}$ oder darüber.

2. Durch Zusatz einer geringen Menge hämolysierter Blutkörperchen zu wässerigen Lösungen von Crotalusgift wird die Toxizität derselben um mehr als das Dreihundertfache erhöht, so daß sie dann nur etwa dreimal schwächer als Kobragift wirken.

3. Innerhalb gewisser Grenzen steigt die Toxizität von Crotalusgiftlösungen mit der Menge der zugesetzten Blutkörperchen. Ein Zusatz von weniger als 0,1 ccm Blutkörperchenbrei zu 25 ccm Crotalusgiftlösung hat nur noch wenig Wirkung, ein Zusatz von 1 ccm zu derselben Menge Lösung wirkt schon fast maximal.

4. Diese stark erhöhte Wirksamkeit wird wahrscheinlich durch die Phosphatide der Blutkörperchen oder durch eines der Spaltprodukte dieser Phosphatide bedingt, da Zusatz von Mercks „Lecithin" zu Crotalusgiftlösungen qualitativ und quantitativ eine ähnliche Zunahme der Toxizität verursacht.

5. Wenn man eine wässerige Crotalusgiftlösung einen Augenblick aufkocht und darauf hämolysierte Blutkörperchen zusetzt, zeigt sich die toxische Wirkung außerordentlich stark erniedrigt.

6. Eine Lösung von Crotalusgift in Blutserum wirkt ebenfalls stärker als Lösungen in reinem Wasser, doch nur ca. 4 bis 5mal stärker. Das verwendete Serum muß vor oder nach der Auflösung des Giftes auf über 50° C einige Zeit erhitzt

werden, da es sonst für sich allein auf Kaulquappen rasch schädlich einwirkt.

7. Sowohl die Lösungen von Crotalusgift in reinem Wasser als auch die in Serum oder nach Zusatz von hämolysierten Blutkörperchen, die genügend konzentriert sind, um vollständige Unerregbarkeit des Zentralnervensystems zu bewirken, schwächen auch das Herz so sehr, daß die Zirkulation gleichzeitig oder kurz nachher fast oder vollständig aufhört. Hierdurch unterscheidet sich eine Vergiftung durch Crotalusgift sehr wesentlich von einer solchen durch Kobragift.

8. Crotalusgiftlösungen bewirken nach Zusatz von hämolysierten Blutkörperchen eine mehr oder weniger starke Beschädigung der Hautepithelien schon vor dem Tode der Kaulquappen. Diese Wirkungen sind besonders intensiv, wenn die Lösungen mehr als 1:50000 Crotalusgift enthalten. — Auch Lösungen von Crotalusgift in reinem Wasser, die überhaupt genügend konzentriert sind, um wirksam zu sein, haben diese lokale Wirkung auf die Hautepithelien, aber in viel geringerem Grade. — Die Lösungen in Serum haben diese Wirkung nicht oder kaum merklich.

9. Infolge der lokalen Wirkungen auf die Hautepithelien und der deletären Wirkung auf die Zirkulation sind weitergehende Vergiftungen durch Crotalusgift nach Überführung der Kaulquappen in reines Wasser oder Ringer-Lösung nicht wie die durch Kobragift vollständig reversibel, wohl aber oft teilweise reversibel.

10. Ein Zusatz von Calciumchlorid zu Lösungen von Crotalusgift + hämolysierten Blutkörperchen hebt die Giftwirkungen der Lösungen auf Kaulquappen vollständig auf oder (bei konzentrierteren Giftlösungen) schwächt ihre Wirkungen sehr stark ab, immerhin weniger stark als die von Kobragiftlösungen.

11. Trotzdem das Antivenin des Handels (aus dem Institut Pasteur in Lille) nur durch Vorbehandlung von Pferden mit dem Gifte von Naja tripudians, von Naja haje und von Bungarus fasciatus (alle drei nahe verwandte Giftschlangen) gewonnen wird, heben Lösungen von Antivenin die Wirkungen von Crotalusgift (+ hämolysierten Blutkörperchen) auf oder (bei konzentrierteren

Giftlösungen) schwächen dieselben sehr stark ab, ungefähr ebenso stark wie die von Kobragift.

12. Da das Sekret der Giftdrüsen von Crotalus meist 20 % oder mehr feste Bestandteile enthält, so kommt beim Bisse das Blut in den Capillaren in der nächsten Umgebung der Bißstelle zunächst mit einer sehr konzentrierten Giftlösung zusammen, wodurch Hämolyse eintritt. Nach Wechselwirkung mit Bestandteilen (wahrscheinlich Phosphatiden) der hämolysierten Blutkörperchen gewinnt dann das Crotalusgift eine außerordentlich stark erhöhte Toxizität und kann darauf schon in sehr geringen Konzentrationen starke lokale und resorptive Wirkungen ausüben.

Die getrennte Bestimmung von Phenol und Parakresol im Harne.

Von

M. Siegfried und R. Zimmermann.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 20. Juni 1911.)

Vor kurzem[1]) haben wir eine Methode mitgeteilt, die gestattet, in Gemischen von Phenol und p-Kresol, deren Summe unbekannt ist, Phenol und p-Kresol getrennt zu bestimmen. Vorher kannte man keine Methode, die dies ermöglicht, weshalb eine Bestimmung des Phenols und Kresols im Harne bisher nicht ausführbar war.

Unsere Methode zerfällt in 2 Teile. Zuerst wird diejenige Menge Brom (b_1) ermittelt, die das Phenol und das Kresol zusammen verbrauchen, indem aus ersterem Tribromphenol, aus letzterem Tribromkresol entsteht.

Zweitens wird diejenige Menge Brom (b_2) bestimmt, die bei der Überführung des Phenols in Tribromphenol und des Kresols in Dibromkresol verbraucht wird. Nach der früher (l. c., S. 371) gegebenen Entwicklung berechnen sich die gesuchten Mengen Parakresols (x) und Phenols (y) nach folgenden Gleichungen:

$$x = 0{,}67605\,(b_1 - b_2)$$
$$y = 0{,}5884\,b_2 - 0{,}3923\,b_1.$$

Sowohl für die Bestimmung von b_1 als auch für die von b_2[2]) hatten wir besondere Vorschriften ausarbeiten müssen.

---

[1]) Diese Zeitschr. 29, 368, 1910.

[2]) Bei Besprechung einer Untersuchung von Ditz und Cedivoda (Zeitschr. f. angew. Chem. 1899, 873) hatten wir eine Entgegnung von

Methodisches.

Es bestand die Möglichkeit, wie wir seinerzeit mitteilten (l. c., S. 370), an Stelle unserer b_1-Methode das Brom aus den nach der Vorschrift von Koßler und Penny[1]) erhaltenen Jodwerten zu berechnen. Daher war es geboten, die Genauigkeit dieser Methode einer Kontrolle zu unterwerfen, da infolge der Art der Berechnung bei unserer Methode eine große Genauigkeit der Werte b_1 und b_2 erforderlich ist.

Koßler und Penny haben nur Versuche mit bekannten Mengen Phenol und p-Kresol angestellt, nicht aber mit Gemischen beider. Bei den von ihnen mitgeteilten Bestimmungen, soweit sie als genau bezeichnet werden, beträgt der Fehler 2 bis 3°/₀ des angewandten Kresols, bei den mit Phenol angestellten ist er in der Regel geringer.

Auch wir erhielten für Phenol genauere Werte als für p-Kresol.

A. Bestimmungen des Phenols.

10 ccm Phenollösung (0,0330 g Phenol), 30 ccm $^n/_{10}$-NaOH, 45 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung.

	Angew. Phenol	Gef. Phenol	Differenz	
	g	g	g	%
I.	0,0330	0,0329	— 0,0001	0,3
II.	0,0330	0,0337	+ 0,0007	2,1

B. Bestimmung des Kresols.

10 ccm p-Kresollösung (0,0226 g Kresol), 30 ccm $^n/_{10}$-NaOH, 45 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung.

	Angew. Kresol	Gef. Kresol	Differenz	
	g	g	g	%
I.	0,0226	0,0211	— 0,0014	— 6,2
II.	0,0226	0,0213	— 0,0012	— 5,3

C. Bestimmung der Jodwerte in Gemischen von Phenol und Parakresol.

Verwendet wurden dieselben Phenol- und Kresollösungen, wie in A und B.

Russig und Fortmann (ebenda 1901, 157) angeführt, ohne die hierauf erfolgte Antwort von Ditz (ebenda 1901, 160) zu zitieren, was hiermit nachgeholt sei.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 17, 117, 1892.

I. 10 ccm Phenol- und 10 ccm Kresollösung, 80 ccm $^n/_{10}$-NaOH, 120 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung. Verbr. 87,0 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

II. 10 ccm Phenol- und 10 ccm Kresollösung, 80 ccm $^n/_{10}$-NaOH, 100 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung. Verbr. 67,5 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

III. Genau wie II. Verbr. 67,5 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

IV. 10 ccm Phenol-, 10 ccm Kresollösung, 80 ccm $^n/_{10}$-NaOH, 125 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung. Verbr. 91 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

V. 5 ccm Phenol-, 5 ccm Kresollösung, 30 ccm $^n/_{10}$-NaOH, 50 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung. Verbr. 33,5 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

	Jod gefunden g	Jod berechnet g	Differenz g	Differenz %
I.	0,4194	0,4259	−0,0065	−1,5
II.	0,4130	0,4259	−0,0129	−3,0
III.	0,4130	0,4259	−0,0129	−3,0
IV.	0,4326	0,4259	+0,0067	+1,6
V.	0,2095	0,2130	−0,0035	−1,6

Die von uns gefundenen Differenzen entsprechen also den von Koßler und Penny gefundenen.

Vergleichen wir damit die Genauigkeit unserer b_1-Methode. Auf S. 382 unserer zitierten Abhandlung sind 2 Versuchsreihen mitgeteilt, bei denen die Menge der angewandten Phenol- und Kresollösungen weitgehend variiert wurden. Wir führen hier die gefundenen und berechneten Bromwerte sowie die Differenzen an:

Brom gefunden g	Brom berechnet g	Differenz g	Differenz %
0,2167	0,2179	−0,0012	−0,6
0,2573	0,2568	+0,0005	+0,2
0,2734	0,2760	−0,0026	−0,9
0,3325	0,3338	−0,0013	−0,4
0,2426	0,2414	+0,0012	+0,5
0,2747	0,2734	+0,0013	+0,5
0,2868	0,2893	−0,0025	−0,9
0,3365	0,3372	−0,0007	−0,2
0,3521	0,3532	−0,0011	−0,3
0,2978	0,3000	−0,0022	−0,7
0,3014	0,3000	+0,0014	+0,5
0,2978	0,3000	−0,0022	−0,7
0,2986	0,3000	−0,0014	−0,5
0,3119	0,3100	+0,0019	+0,6
0,3116	0,3100	+0,0016	+0,5
0,3118	0,3100	+0,0018	+0,6
0,3110	0,3100	+0,0010	+0,3

Zu dieser Tabelle ist zu bemerken, daß die letzten 4 Versuche nach der endgültigen Vorschrift, nach der nach dem Eintritt der Gelbfärbung noch der 8. Teil der verwendeten Bromidbromatlösung zugesetzt wird, ausgeführt sind.

Aber nicht nur diese 4 Versuche, sondern auch die übrigen lieferten, wie die Tabelle zeigt, viel genauere Werte als die mit der Methode von Koßler und Penny erhaltenen. Für unsere Methode, die infolge der Art der Berechnung eine große Genauigkeit der b_1- und b_2-Werte erheischt, empfiehlt es sich nicht, die Vorschrift von Koßler und Penny anzuwenden.

Es ist wohl nicht anzunehmen, daß künftig nur die Gesamtphenole im Harne bestimmt werden, sondern daß stets unsere Methode zur getrennten Bestimmung des Phenols und des Kresols angewandt werden wird. Sollte man aber in einzelnen Fällen sich mit der Bestimmung der Gesamtphenole begnügen wollen, so würde man an Stelle der jetzt üblichen von Koßler und Penny unsere b_1-Methode zu wählen haben, weil sie genauer als jene ist.

Für die Bestimmung der Phenole im Harne ist es bekanntlich erforderlich, aus dem durch Destillation des Harnes mit Mineralsäuren erhaltenen Destillate, das flüchtige Säuren neben den Phenolen enthält, letztere von ersteren zu trennen. Diese Trennung geschah bis vor kurzem durch Destillation mit Calciumcarbonat, wobei die Säuren quantitativ in Calciumsalze übergeführt und somit bei der Destillation mit Wasserdämpfen nicht mit übergehen sollen, während die Phenole nicht gebunden und quantitativ übergehen sollen.

Theoretisch ist eine solche quantitative Trennung überhaupt nicht möglich, da ja Phenole auch Säuren sind, da auch sie Wasserstoff in wässeriger Lösung abdissoziieren und sich somit von den sog. Säuren nur quantitativ, nicht aber qualitativ unterscheiden.

Die Trennung wird also stets nur ein annähernde sein, wenn sie auch praktisch den analytischen Anforderungen entsprechen kann.

Unserer Kenntnis nach hat zuerst W. Mooser[1]) gezeigt,

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 166, 1909.

daß bei der Destillation mit Calciumcarbonat ein Teil der Phenole, namentlich der Kresole gebunden wird, daß man somit nach dem bisherigen Verfahren zu wenig Phenole findet. Genaue Resultate erhielt Mooser, wenn er während der Destillation Kohlensäure einleitete.

Wir wollten Calciumcarbonat + Kohlensäure durch Natriumbicarbonat ersetzen, erstens der Vereinfachung wegen, zweitens, um an Stelle des Calciumcarbonates ein lösliches Salz anzuwenden, damit eine schnellere Bindung der „Säuren“ erzielt würde.

Wie die folgenden Versuche zeigen, konnten wir jedoch so keine brauchbaren Werte gewinnen, wenigstens nicht für Kresol und Kresol- und Phenolgemische.

I. 10 ccm Phenollösung (0,0330 g) mit ca. 200 ccm H_2O verdünnt, mit überschüssigem Natriumbicarbonat (ca. 15 g) versetzt, mit Wasserdämpfen destilliert. Destillat mit Natronlauge eingedampft, Phenol nach Koppeschaar bestimmt. Titer der Bromidbromatlösung: 50 ccm = 0,2382 g freies Br. Verw.: 50 ccm Bromidbromatlösung. 30 ccm HCl (25 %) 25 ccm 5 %ige Jodkaliumlösung. Verbr.: 8,70 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung:

Phenol gefunden:	berechnet:
0,0331 g	0,0330 g.

II. 10 ccm p-Kresollösung ebenso; nach Keppler titriert. 50 ccm Bromidbromatlösung. Verbr.: 17,80 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung:

Kresol gefunden:	berechnet:	Differenz:
0,0216 g	0,0225 g	— 4 %.

III. 10 ccm p-Kresollösung. Verw.: 27 ccm Bromidbromatlösung (50 ccm = 0,2400 g Br). Gebr.: 4,60 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

Kresol gefunden:	berechnet:	Differenz:
0,0209 g	0,0225 g	— 7,1 %.

IV. 10 ccm Phenol- und 10 ccm p-Kresollösung.

Nach b_1-Methode b_1 bestimmt.

Bei 56 ccm Bromidbromatlösung trat Gelbfärbung ein, im ganzen also 63 ccm. (50 ccm = 0,2400 g Br).

Br gefunden:	berechnet:	Differenz:
0,2458 g	0,2680 g	— 8,3 %.

V. Wie Versuch IV.

Bei 59 ccm Bromidbromatlösung Gelbfärbung; im ganzen 66,3 ccm Bromidbromatlösung verwendet.

Verbr.: 9,6 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

Br gefunden:	berechnet:	Differenz:
0,2415 g	0,2680 g	— 9,9 %.

Da also selbst bei Gegenwart von Natriumbicarbonat etwas Kresol gebunden wird, haben wir bei den folgenden Versuchen Natriumbicarbonat zugesetzt und während der ganzen Destillation Kohlensäure durchgeleitet und so genaue Werte erhalten:

I. 10 ccm Phenollösung (0,0330 g) und 10 ccm Kresollösung (0,0225 g), Wasser, 15 g Natriumbicarbonat, CO_2-Strom. Angew.: 67,5 ccm Bromatbromidlösung (50 ccm = 0,2400 g Br). Verbr.: 6,5 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfat.

II. Ebenso wie I. Angew.: 67,5 ccm Bromidbromatlösung, zurücktitriert 7,1 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfat.

	Gef. Br	Ber. Br	Differenz
	g	g	%
I.	0,2721	0,2680	+ 1,6
II.	0,2673	0,2680	+ 0,3

W. Mooser[1]) gibt an, daß p-Kresol bei der Destillation mit Schwefelsäure nicht vollständig im Destillate wieder erhalten werde. Er erhält so wesentliche Differenzen zwischen angewandten und wieder erhaltenen Kresolmengen, bis 29,5 %. Er meint, daß möglicherweise Sulfurierungen stattfänden. Deshalb verwendet er Phosphorsäure und erhält so genaue Werte.

Da die Zersetzung der ätherschwefelsauren Salze des Harns langsamer bei Anwendung von Phosphorsäure als bei Anwendung von Schwefelsäure stattfinden muß und wie Mooser auch angibt, langsamer stattfindet, außerdem die Phosphorsäure viel teurer als die Schwefelsäure ist, haben wir neue Versuche unter Anwendung von Schwefelsäure angestellt, nicht, weil wir die Richtigkeit der Mooserschen Versuche anzweifelten, sondern weil wir glaubten, durch Abänderung zweier Punkte auch mit Schwefelsäure genaue Resultate erzielen zu können.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 163, 1909.

Mooser setzt zu 150 ccm Phenollösungen 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure. Wo diese konzentrierte Säure mit der Phenollösung zusammentrifft, entsteht natürlich eine bedeutende Temperaturerhöhung und stellenweise hohe Konzentrationen an Schwefelsäure. Hierdurch kann wohl eine Sulfurierung bewirkt werden. Deshalb haben wir die Schwefelsäure vor dem Zusatze im Verhältnis 1 : 1 mit Wasser verdünnt.

Zweitens dampft Mooser auf ca. 100 ccm Volum ein. Er erhält also eine ca. 45%ige Schwefelsäure (auf 100 ccm Volum 45 g H_2SO_4). Wir haben mit Wasserdämpfen aus verdünnten Lösungen destilliert. Nach unseren Erfahrungen, die durch die oben und weiter unten mitgeteilten Versuche belegt werden, erhält man bei der Destillation mit Wasserdämpfen auch aus verdünnten Lösungen das gesamte Phenol und Kresol im Destillate.

Da Mooser nur beim Kresol die nachteilige Einwirkung der Schwefelsäure beobachtet hat, haben wir unsere Versuche auf dieses beschränkt.

In diesen Versuchen wurde die Kresollösung (10 bzw. 20 ccm) mit 500 ccm Wasser verdünnt, durch den Hahntrichter im Kolben mit der abgekühlten Mischung von 150 g konz. Schwefelsäure und 150 ccm Wasser versetzt und mit Wasserdämpfen bis zum Versagen der Millonschen Reaktion bzw. länger destilliert. Das Destillat wurde mit viel überschüssiger Natronlauge eingeengt, das Kresol nach Keppler bestimmt.

Nr.	Angewandtes freies Br g	$^n/_{10}$-Thiosulfatlösung ccm	Gefundenes Kresol g	Angewandtes Kresol g	Differenz g
1	0,2385	5,2	0,0444	0,0450	— 0,0006
2	0,2385	5,6	0,0436	0,0450	— 0,0014
3	0,3116	16,1	0,0412	0,0419	— 0,0007
4	0,3116	15,9	0,0416	0,0419	— 0,0003
5	0,3116	15,8	0,0418	0,0419	— 0,0001

Für die Bestimmung des Gesamt-Phenol-Jodwertes nach Koßler und Penny hat Neuberg[1]) eine Modifikation an-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 123, 1899.

gegeben, die bezweckt, beim Kochen mit Schwefelsäure aus Harnbestandteilen, namentlich in diabetischem Harne aus Traubenzucker, entstehende flüchtige jodbindende Substanzen zu entfernen. Er erreicht dies durch Erwärmen bzw. Kochen mit Bleilösung und Natronlauge. Ursprünglich erschien es uns wenig wahrscheinlich, daß namentlich beim normalen Harne flüchtige Verbindungen entstünden, die unsere Bestimmung mit Bromatbromidlösungen beeinflußten. Wir haben aber doch bei Parallelbestimmungen öfters so herausfallende Werte ohne Anwendung der Neubergschen Modifikation erhalten, daß wir ihre Anwendung für nötig halten. An den unten folgenden Bestimmungen ist sie stets ausgeführt worden.

Der Gehalt des menschlichen Harnes an Phenol und p-Kresol.

Zu den Bestimmungen diente stets gemischter Harn von mehreren Individuen (Studenten). Das spezifische Gewicht betrug 1,018 bis 1,020. Die Harne waren stets eiweiß- und zuckerfrei.

Je 3 l mit Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzten Harnes werden in einer Schale auf dem Wasserbade bis ca. $^1/_5$ des ursprünglichen Volumens eingeengt und in den Destillationskolben übergeführt. Dieser ist durch einen 3fach durchbohrten Gummistopfen außer mit dem Destillationsrohre und dem den Wasserdampf zuleitenden Rohre mit einem Hahntrichter versehen, durch den bei den folgenden Manipulationen sowohl die Schwefelsäure als das in Wasser aufgeschwemmte Natriumbicarbonat eingeführt wird. Auf diese Weise soll ein Verlust an Phenolen durch Verdampfen oder Mitfortgerissenwerden durch Kohlensäurebläschen vermieden werden. Durch den Hahntrichter wird die abgekühlte Mischung von 150 g konzentrierter Schwefelsäure und 150 ccm Wasser gegeben; es wird mit Wasserdämpfen unter gleichzeitiger Erhitzung des Destillationskolbens bis zum Sieden der Flüssigkeit so lange bzw. länger destilliert, bis das Destillat die Millonsche Reaktion nicht mehr gibt. Man prüft erst dann mit dem Millonschen Reagens, wenn das Volum des Destillates ca. 1 l beträgt.

Dieses Destillat wird im Kolben mit 30 bis 40 g in Wasser aufgeschlemmten Natriumbicarbonates durch den Hahntrichter

vermischt und unter Durchleiten eines Kohlensäurestromes, den man vorteilhaft schon durch den Wasserdampf-Entwickler führt, wieder bis zum Versagen (s. o.) der Millonschen Reaktion oder länger destilliert.

Dieses Destillat wird nach Neuberg mit der Mischung der wässerigen Lösungen von 3 g Natronhydrat und 18 g Bleiacetat im Kolben versetzt, auf einem siedenden Wasserbade 15 Minuten stehen gelassen, dann bis alkalisch-ammoniakalische Silbernitratlösung nicht mehr reduziert wird, abdestilliert. Hierauf wird mit Schwefelsäure (1:1) durch den Hahntrichter stark angesäuert und mit Wasserdämpfen bis zum Versagen der Millonschen Reaktion destilliert. Das Destillat wird mit einem großen Überschusse von Natronlauge in einer Schale auf dem Wasserbade eingeengt, im Maßkolben auf 200 ccm aufgefüllt und nach unserer Methode b_1 und b_2 bestimmt.

Zur Kontrolle haben wir zunächst nochmals ein bekanntes Gemisch von p-Kresol und Phenol nach unserer Methode analysiert:

I. Je 10 ccm p-Kresollösung (0,0225 g) und je 10 ccm Phenollösung (0,0330 g) zur Bestimmung von b_1 und b_2 verwendet.

b_1: auf 100 ccm verdünnt, dazu 25 ccm Schwefelsäure (1:1) bei 65,8 ccm Bromidbromatlösung (50 ccm = 0,2374 g freies Brom) Gelbfärbung. Dazu $^1/_8$, im ganzen 74 ccm Bromidbromatlösung. Zurücktitriert 10,2 ccm Thiosulfatlösung $^n/_{10}$.

b_2: 65,8 ccm Bromidbromatlösung. Zurücktitriert 9,65 ccm Thiosulfatlösung

$b_1 = 0,2715$, $b_2 = 0,2368$

Kresol gef.: 0,0235 g	Phenol gef.: 0,0328 g
„ ber.: 0,0225 g	„ ber.: 0,0330 g
Differenz: + 0,0010 g	Differenz: — 0,0002 g

II. Die gleichen Kresol- und Phenolmengen.

b_1: bei 57,7 ccm Bromidbromatlösung Gelbfärbung, im ganzen 64,9 ccm Bromidbromatlösung. Zurücktitriert: 5,6 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

b_2: 57,7 ccm Bromidbromatlösung. Zurücktitriert: 5,1 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung.

$b_1 = 0,2643$, $b_2 = 0,2332$

Kresol gef.: 0,0210 g	Phenol gef.: 0,0335 g
„ ber.: 0,0225 g	„ ber.: 0,0330 g
Differenz: — 0,0015 g	Differenz: + 0,0005 g

Die Ergebnisse der Bestimmungen im Harne sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Versuchs-Nr.	Titer d. Bromidbromatlösung 50 ccm = fr. Br.	Angewandte Bromidbromatlösung für		$^n/_{10}$-Thiosulfat für		Gefundene Werte für		Gefundene Mengen in 1,5 l Harn		Gesamt-Menge in 1,5 l Harn	Von der Gesamtmenge der Phenole	
		b_1	b_2	b_1	b_2	b_1	b_2	p-Kresol	Phenol		p-Kresol	Phenol
	g	ccm	ccm	ccm	ccm	g	g	g	g	g	%	%
1	0,2385	50	44,5	5,75	7,4	0,1925	0,1532	0,0266	0,0146	0,0412	64,6	35,4
2	0,2385	73	64,9	7,6	9,4	0,2874	0,2345	0,0358	0,0252	0,0610	58,7	41,3
3	0,2385	64,2	57,1	5,3	7,3	0,2638	0,2141	0,0336	0,0225	0,0561	59,9	40,1
4	0,2385	65,7	58,4	15,7	16,7	0,1879	0,1451	0,0289	0,0117	0,0406	71,2	28,8
5	0,1558	72,5	64,5	4,4	5,6	0,1907	0,1568	0,0229	0,0175	0,0404	56,7	43,3
6	0,1558	101,8	90,5	17,1	16,2	0,1805	0,1525	0,0189	0,0189	0,0378	50,0	50,0
7	0,1558	71,8	63,8	2,7	3,55	0,2021	0,1704	0,0214	0,0210	0,0424	50,5	49,5
8	0,1558	87,0	77,3	9,3	9,7	0,1968	0,1634	0,0226	0,0189	0,0415	54,5	45,5
9	0,1558	78,8	70,0	6,55	7,45	0,1931	0,1586	0.0233	0,0175	0,0408	57,1	42,9
						Im Mittel:		0,0260	0,0186	0,0446	58,1	41,9

Man sieht aus der Tabelle, daß die Werte für Gesamtphenole den bisher bekannten entsprechen. Hingegen ist das Verhältnis von p-Kresol zu Phenol ein anderes, als man bisher angenommen hatte. Da man bisher keine Methode zur getrennten Bestimmung von Phenol und Kresol besaß, gründet sich die bisherige Annahme, daß 85% der Gesamtphenole aus p-Kresol bestünden, auf die präparativen Versuche von E. Baumann[1]). Derselbe führt das aus dem Harne erhaltene Phenolgemenge in die Sulfosäuren über und trennt das schwer lösliche Bariumsalz der Parakresolsulfosäure von dem leicht löslichen Bariumsalz der Phenolsulfosäure. Da er aus der ätherischen Lösung die Phenole durch Abdunsten des Äthers gewinnt, verliert er Phenol, das viel leichter flüchtig ist als p-Kresol; das so erhaltene Phenolgemenge enthält also relativ viel mehr Kresol als dem Gehalte des Harnes an Kresolätherschwefelsäure und Phenolätherschwefelsäure entspricht.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 183, 1882.

Wir haben im Mittel 58,1 % p-Kresol vom Phenolgemenge erhalten; würde der Versuch 4 herausfallen, so würde diese Durchschnittszahl noch niedriger sein.

Hierbei muß berücksichtigt werden, daß wir stets Harn mehrerer Individuen verwendeten, so daß es nicht ausgeschlossen ist, daß bei den einzelnen Individuen das Verhältnis von Kresol zu Phenol ein sehr verschiedenes ist. Darüber sollen erst weitere bereits begonnene Versuche Aufschluß geben. Überhaupt wird es jetzt erst möglich sein, die physiologische und pathologische Bedeutung der Kresol- und Phenol-Ausscheidung zu studieren.

Über das Verhalten der Phenolase gegen Säuren.

Von

A. Bach und B. Sbarsky.

(Aus A. Bachs Privatlaboratorium und dem Universitätslaboratorium in Genf.)

(Eingegangen am 21. Juni 1911.)

Mit 1 Figur im Text.

Von Bertrand[1]) wurde bekanntlich die Phenolase („Laccase") als ein hydrolytisch leicht spaltbares Mangansalz einer organischen Säure aufgefaßt. Unter dem Einflusse des Wassers zerfalle dieses Salz im Sinne der Gleichung:

$$R_{11}Mn + H_2O = RH_2 + MnO$$

in freie Säure und Manganoxydul, das als Sauerstoffüberträger fungiere und das einzig wirksame Agens der Phenolase sei. Diese Auffassung läßt voraussetzen, daß Säuren, insbesondere Mineralsäuren, auf die Phenolase hemmend wirken müssen, indem sie mit dem Mangan stabile, hydrolytisch wenig oder gar nicht spaltbare Salze bilden. Bertrand[2]) konnte diese Voraussetzung bestätigen. Aus dem Saft des japanischen Lackbaumes wurde von ihm eine Oxydase dargestellt, deren Einwirkung auf Guajakol durch außerordentlich kleine Säuremengen aufgehoben werden konnte. In einer Lösung, die in 10 ccm $^1/_{2000}$ Laccase (d. h. 0,5 mg) enthielt, blieb die oxydierende Wirkung aus, wenn der Säuregrad $^n/_{1000}$-Schwefelsäure (d. h. 0,49 mg H_2SO_4) erreicht hatte. Als tödlich für $^1/_{4000}$ Laccase erwies sich $^n/_{2000}$-Schwefelsäure usw. An die Ergebnisse seiner Versuche, die er als einen weiteren Beweis für die Richtigkeit

[1]) Compt. rend. 124, 124 und 1335, 1897.

[2]) Compt. rend. 115, 340; Annales de Inst. Pasteur 21, 673, 1907.

seiner Auffassung betrachtet, knüpft **Bertrand** weitgehende Schlußfolgerungen betreffend die Natur des elektronegativen Anteils RH_2 der Phenolase: letzterer sei eine Säure etwa von der Stärke der Aminoazobenzosulfonsäure.

Im Laufe seiner Untersuchungen über Oxydationsfermente machte der eine von uns (**Bach**) die Beobachtung, daß die aus gewissen Pilzen gewonnene, überhaupt sehr haltbare Phenolase beträchtliche Mengen Mineralsäuren vertragen kann, ohne daß sie dabei ihre Wirksamkeit einbüßt. Im Vergleich zu den angewandten Fermentmengen sind die tödlichen Säuremengen so groß, daß von einer „Neutralisation des Manganoxyduls" im Sinne der **Bertrand**schen Auffassung gar nicht die Rede sein kann. Bei der Wichtigkeit der Frage für die Theorie der Oxydasenwirkung schien es uns wünschenswert, das Verhalten der Phenolase gegen Säuren einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen.

1. Untersuchungsmethode.

Als Versuchsmaterial wurde eine aus Pilzen (Lactarius vellereus) dargestellte Phenolase angewandt.

5 kg Pilze wurden fein zerkleinert und abgepreßt, der Preßsaft (2 l) wurde mit 20 g Magnesiumsulfat und 2 l starkem Alkohol versetzt und nach kurzem Stehenlassen filtriert. Das klare Filtrat wurde mit dem 3fachen Volumen 98%igem Alkohol vermischt, der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Alkohol nachgewaschen und im Vakuum über Chlorcalcium getrocknet. Das trockene Präparat wurde in 200 ccm Wasser gelöst, von unlöslichem abfiltriert, und das Filtrat wurde in 1 l absoluten Alkohol eingegossen. Der entstandene Niederschlag wurde in der oben angegebenen Weise weiter behandelt. Wir erhielten hierbei ein leicht lösliches sehr wirksames Phenolasepräparat, von dem 0,0002 g, mit 0,2 g Pyrogallol in 10 ccm Wasser zusammengebracht, schon nach wenigen Minuten eine insensive Gelbfärbung der Flüssigkeit hervorbrachten. Eine unter gleichen Bedingungen mit gekochter Phenolase angestellte Probe blieb tagelang farblos. Das Präparat enthielt 5,64% Wasser, 70,78% organische Substanz und 23,58% Asche. Die Untersuchung der letzteren auf Mangan ergab beim Schmelzen mit Salpeter und Soda ein negatives, beim Behandeln mit Salpetersäure und Bleiperoxyd ein sehr schwach positives Resultat. Zur Neutralisation von 0,1179 g Asche waren 5,0 ccm 0,01 normaler Schwefelsäure erforderlich.

Der Verlauf der Phenolasewirkung läßt sich am besten an dem bei der Einwirkung des Fermentes auf Pyrogallol entstehenden Purpurogallin auf gravimetrischem Wege messend

verfolgen. Abgesehen von ihrer Umständlichkeit, leidet aber diese Methode an dem Übelstand, daß sie nur dann brauchbare Resultate gibt, wenn beträchtliche Purpurogallinmengen (mindestens 0,05 g) zur Wägung kommen. Um diesem Übelstand vorzubeugen, arbeiteten wir eine volumetrische Methode aus, die gestattet, minimale Mengen Purpurogallins quantitativ zu bestimmen.

Das purpurogallinhaltige Reaktionsgemisch wird durch eine mit Asbest beschickte Röhre filtriert — wir wenden dazu gewöhnliche, mit Kugel versehene Chlorcalciumröhren an —, der Purpurogallinrückstand wird mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser Kaliumpermanganat nicht mehr reduziert, dann in konzentrierter Schwefelsäure quantitativ gelöst, die erhaltene tiefrote Lösung wird mit dem 6 bis 8fachen Volumen Wasser verdünnt und mit 0,01 normaler Kaliumpermanganatlösung bis zur Entfärbung titriert. Die Methode gibt gut vergleichbare Resultate. In drei zu verschiedenen Zeiten mit gleichen Phenolasemengen und unter sonst gleichen Bedingungen ausgeführten Versuchen wurden zur Entfärbung der schwefelsauren Purpurogallinlösung 4,8, 4,9 und 4,8 ccm 0,01 normaler Kaliumpermanganatlösung verbraucht.

Bei der Einwirkung der Phenolase auf Pyrogallol entstehen, außer dem unlöslichen Purpurogallin, auch braunrote wasserlösliche Oxydationsprodukte. Bei abgeschwächten Phenolasen entstehen überhaupt nur letztere (s. weiter unten). Die Bildung dieser Produkte verfolgten wir messend bei den Reihenversuchen mit steigenden Säuremengen auf colorimetrischem Wege, indem wir als colorimetrische Einheit die Färbung des bei Kontrollversuchen ohne Säurezusatz erhaltenen Filtrates annahmen.

2. Phenolase und Schwefelsäure.

Bei der Einwirkung der Phenolase auf Phenole in saurer Lösung machen sich zweierlei Einflüsse geltend: die Hemmung der Oxydation des Phenols für sich durch das saure Medium und die Zerstörung des Fermentes durch die Säure. Daß die Luftoxydation der Phenole durch Alkalien gefördert und durch Säuren gehemmt wird, ist eine längst bekannte Tatsache. Bertrand machte zwischen diesen Einflüssen keinen Unterschied und schrieb der Zerstörung der Phenolase durch die Säuren zu, was zum Teil mindestens auf die Rechnung der Hemmung der Grundreaktion durch die Säuren gesetzt werden muß. Um die Verhältnisse näher kennen zu lernen, stellten wir einerseits Versuche mit Phenolase und Pyrogallol in saurer Lösung an und ließen andererseits Säure auf Phenolase einwirken und führten nach Neutralisieren der Säure mit dem in

dieser Weise behandelten Ferment Versuche unter gewöhnlichen Bedingungen in neutraler Lösung aus.

a) Einfluß der Schwefelsäure auf die Oxydation des Pyrogallols durch Phenolase.

Die Versuche wurden mit je 0,02 g Phenolase, 0,2 g Pyrogallol und steigenden Schwefelsäuremengen in 30 ccm bei Zimmertemperatur ausgeführt. Nach 48 Stunden langer Einwirkung wurden die Reaktionsgemische in oben angegebener Weise untersucht. Gleichzeitig wurden Kontrollversuche mit aktiver Phenolase ohne Säurezusatz, mit gekochter Phenolase unter Säurezusatz und mit Pyrogallol und Schwefelsäure ohne Phenolasezusatz angestellt. In nachstehender Tabelle sind die Hauptresultate dieser Versuchsreihe zusammengestellt. Die zur Entfärbung der schwefelsauren Purpurogallinlösung verbrauchte Permanganatlösung ist in mg Sauerstoff ausgedrückt.

Zugesetzte Schwefelsäure mg	Purpurogallin in mg Sauerstoff	Färbungsintensität	Zugesetzte Schwefelsäure mg	Purpurogallin in mg Sauerstoff	Färbungsintensität
0,00	1,804	1,00	56,35	0	1,30
0,98	2,625	1,50	75,11	0	0,75
1,96	1,401	1,75	93,90	0	0,54
2,94	1,212	2,00	112,70	0	0,32
3,92	0,956	2,15	116,37	0	0,21
4,90	0,848	2,30	122,50	0	0,09
5,94	0,619	2,50	128,62	0	0,03
6,86	0,480	2,60	134,75	0	0,00
9,80	0,310	2,71			
12,74	0,298	2,70			
22,54	0,117	3,11			
28,17	0,094	3,30			
37,55	0,033	3,22			

Aus obiger Tabelle ergibt sich zunächst, daß geringe Schwefelsäuremengen auf die Phenolase nicht einen hemmenden, sondern sogar einen fördernden Einfluß ausüben. In Gegenwart von 0,98 mg Schwefelsäure lieferten 20 mg Phenolase das anderthalbe der Purpurogallinmenge, die bei dem Kontrollversuch ohne Säurezusatz erhalten wurde. Mit steigendem Säurezusatz nimmt die Purpurogallinbildung regelmäßig ab und bleibt völlig aus, wenn das Reaktionsgemisch für 20 mg Phenolase etwa das 2fache Gewicht Schwefelsäure in 30 ccm enthält. Höchst bemerkenswert ist weiter, daß mit der Abnahme der Purpurogallinbildung die Färbungsintensität der Reaktionsflüssigkeit, d. h. die Bildung löslicher, ge-

färbter Oxydationsprodukte, stetig zunimmt, wobei das Maximum der Färbungsintensität fast genau mit dem Minimum der Purpurogallinbildung zusammenfällt, wie durch untenstehendes Diagramm veranschaulicht wird. Mit anderen Worten, das Reaktionsgemisch gewinnt an löslichen Oxydationsprodukten, was es an Purpurogallinbildung verliert. Daraus ergibt sich, daß die Schwefelsäure zwar unter den angegebenen Konzentrationsverhältnissen auf die Purpurogallinbildung hemmend wirkt, sie verhindert aber nicht die Bildung der löslichen, gefärbten Oxydationsprodukte, die sich in Abwesenheit von Säure weiter zu Purpurogallin kondensieren. Nach Erreichung des Maximums der Färbungsintensität nimmt die Bildung gefärbter Oxydationsprodukte mit steigenden Säuremengen ab und hört erst bei einem Schwefelsäuregehalt von 134,75 mg völlig auf. Zur Lähmung von 20 mg Phenolase in 30 ccm war also das 7fache Gewicht an Schwefelsäure erforderlich.

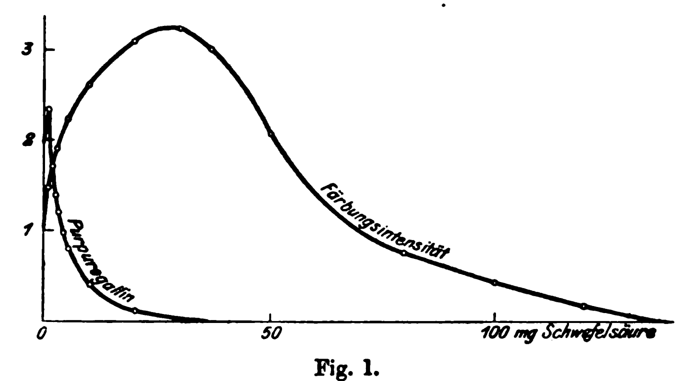


Fig. 1.

Noch besser tritt die Unzulänglichkeit der Bertrandschen Auffassung zum Vorschein, wenn man die tödlichen Schwefelsäuredosen für wechselnde Phenolasekonzentrationen bestimmt. Wie oben erwähnt, ist von Bertrand für seine Laccase eine genau direkte Proportionalität zwischen den Fermentmengen und den tödlichen Säuremengen festgestellt worden. Bei unserer Phenolase stellten sich die Verhältnisse, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist, ganz anders her aus.

0,2 g Pyrogallol, steigende Phenolase- und Schwefelsäuremengen in 30 ccm.

Phenolasemengen in mg	0,5	1,0	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0	30,0
Tödliche Säuremengen in mg	16,7	28,0	61,2	85,7	112,0	134,2	145,0	152,0

Die tödlichen Schwefelsäuredosen wachsen also bei weitem langsamer als die Phenolasekonzentrationen: für 0,5 mg Phenolase beträgt die tödliche Säuremenge das 33 fache, für 30 mg nur das 5 fache der Fermentmenge. Berücksichtigt man die Tatsache, daß der von der Phenolase herbeigeführte Umsatz ebenfalls langsamer als die Fermentkonzentrationen wächst, so ergibt sich, daß die tödlichen Säuremengen nicht den absoluten Phenolasemengen, sondern der Wirksamkeit des Fermentes bei den gegebenen Konzentrationen proportional sind.

b) Einwirkung der Schwefelsäure auf Phenolase.

Zur Ermittelung des eigentlichen Einflusses der Schwefelsäure auf Phenolase war es erforderlich, die mit Säure vorbehandelte Fermentlösung nach bestimmten Zeiten zu neutralisieren und dann auf Pyrogallol unter gewöhnlichen Bedingungen einwirken zu lassen. Wir verfuhren folgendermaßen:

0,2 g Phenolase wurden in 320 ccm Wasser gelöst, mit 120 ccm 0,1 normaler Schwefelsäure vermischt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zu bestimmten Zeiten wurden dem Gemisch je 22 ccm (entsprechend 0,02 g Phenolase) entnommen, mit 0,1 normaler Natronlauge unter Phenolphtaleinzusatz bis zur schwachen Rosafärbung neutralisiert und mit einem Tropfen verdünnter Citronensäure entfärbt. Die Fermentlösung wurde dann mit 0,2 g Pyrogallol zu 30 ccm vermischt und nach 48 Stunden wurde das Gemisch auf Purpurogallin und gefärbte Oxydationsprodukte untersucht.

Stunden	0	1	2	4	8	24	48	120
Purpurogallin . .	1,80	0,99	0,86	0,53	0,66	0,0	0,0	0,0
Färbungsintensität	1,00	0,73	0,81	0,87	0,95	2,32	1,90	1,00

Bei der Einwirkung von Schwefelsäure auf Phenolase unter den angegebenen Bedingungen findet also eine verhältnismäßig langsame Abnahme ihrer Wirksamkeit statt. Nach 8 Stunden langer Einwirkung ist die Purpurogallinbildung auf $^{2}/_{3}$ gesunken, nach 24 Stunden hat die Phenolase die Fähigkeit, Purpurogallin zu bilden, verloren, aber ihre Fähigkeit, Pyrogallol zu löslichen, braungefärbten Produkten zu oxydieren, hat sich noch nach 120 Stunden langer Berührung mit Schwefelsäure bewährt. Durch Kontrollversuche wurde festgestellt, daß das bei der Neutralisation der Schwefelsäure entstehende Natriumsulfat auf die Oxydation des Pyrogallols keinen merklichen Einfluß ausübt.

3. Phenolase und andere Säuren.

In der oben angegebenen Weise führten wir mehrere Versuchsreihen mit Chlorwasserstoffsäure, Milchsäure, Oxalsäure und Citronensäure aus. Auf die Einzelheiten dieser Versuche, die an einem anderen Orte ausführlich beschrieben werden sollen, wollen wir hier nicht eingehen. Dem umfangreichen Versuchsmaterial entnehmen wir nur folgende Tabelle, in der die für 0,02 g Phenolase in 30 ccm tödlichen Säuredosen in Grammen und in Grammäquivalenten angegeben sind.

Tödliche Säuredosen für 0,02 g Phenolase in 30 ccm.

	Schwefelsäure	Chlorwasserstoffsäure	Milchsäure	Oxalsäure	Citronensäure
Gramm	0,134	0,109	7,020	0,189	3,90
Grammäquivalent	0,0026	0,003	0,078	0,004	0,060

Auffallend ist hier die außerordentlich schwache Wirkung der Milchsäure und die starke Wirkung der Oxalsäure, die der der Chlorwasserstoffsäure nahe steht. Die starke Schädigung der Laccase durch Oxalsäure ist schon von Bertrand beobachtet worden.

4. Einwirkung der Phenolase auf verschiedene Phenole in saurer Lösung.

Wie oben erwähnt, führte Bertrand seine Versuche mit Guajakol aus, während wir aus analytischen Gründen dem Pyrogallol den Vorzug gaben. Es schien uns wünschenswert, vergleichende Versuche über die Einwirkung von Phenolase auf verschiedene Phenole in saurer Lösung anzustellen. Mit äquivalenten Mengen Hydrochinon, Pyrogallo und Guajakol und gleichen Phenolasemengen ausgeführte Versuche ergaben, daß die für 0,02 g Phenolase tödliche Schwefelsäuremenge mit der Natur des angewandten Substrates wechselt.

Tödliche Schwefelsäuredosen für 0,02 g Phenolase in 30 ccm.

Mit Hydrochinon	Mit Pyrogallol	Mit Guajakol
0,098 g	0,134 g	0,245 g

Wir untersuchten unsere Phenolase auf ihre Wirksamkeit den genannten Phenolen gegenüber und fanden, daß sie am schnellsten Guajakol oxydierte, in zweiter Linie kam Pyrogallol und schließlich Hydrochinon. Es ist schon oben festgestellt worden, daß bei wechselnden Phenolasekonzentrationen und konstantem Substrat unter sonst gleichen Bedingungen die tödlichen Säuredosen der Wirksamkeit des Ferments bei den gegebenen Konzentrationen proportional sind.

Dieser Befund ist nun dahin zu ergänzen, daß bei konstanter Phenolasekonzentration und wechselnden Substraten **die tödlichen Säuredosen der Wirksamkeit des Ferments den einzelnen Substraten gegenüber proportional sind.**

Die volle Bedeutung dieser Erscheinungen ist uns noch nicht klar. Daß es aber sich hier nicht um ein einfaches Binden des Mangans oder irgendeines anderen Metalls durch die Säure handelt, liegt auf der Hand.

Zusammenfassung.

1. Die Gegenwart kleiner Säuremengen wirkt auf die Oxydation des Pyrogallols durch Phenolase unverkennbar fördernd.

2. Mit steigendem Säurezusatz vermindert sich die Purpurogallinbildung, die Färbungsintensität des Reaktionsgemisches nimmt dagegen zu, wobei das Maximum der Färbungsintensität dem Minimum der Purpurogallinbildung entspricht. Daraus ergibt sich, daß bis auf eine gewisse Grenze (etwa 2 Gewichtsteile Schwefelsäure auf 1 Gewichtsteil Phenolase) die Purpurogallinbildung, nicht aber die Entstehung primärer Oxydationsprodukte, durch Säuren gehemmt wird.

3. Nach Ausbleiben der Purpurogallinbildung beginnt auch die Färbung des Reaktionsgemisches mit steigendem Säurezusatz abzunehmen und bleibt schließlich ihrerseits völlig aus. Im Vergleich zu den angewandten Fermentmengen sind die tödlichen Säuredosen so groß, daß von einem einfachen Binden des Mangans oder irgendeines anderen Metalls durch die Säure nicht die Rede sein kann.

4. Bei wechselnden Phenolasekonzentrationen und konstantem Substrat sind die tödlichen Säuredosen nicht den absoluten Fermentmengen, sondern der Wirksamkeit der Phenolase bei den gegebenen Konzentrationsverhältnissen proportional.

5. Bei konstanter Phenolasekonzentration und wechselnden Substraten sind die tödlichen Säuredosen der Wirksamkeit der Phenolase den einzelnen Substraten gegenüber proportional.

6. Bei der Untersuchung des Verhaltens der Phenolase gegen Säuren hat man es mit sehr komplizierten Erscheinungen zu tun, für die zurzeit noch keine endgültige Erklärung möglich ist. Die Bertrandsche Erklärungsweise ist mit den Tatsachen nicht vereinbar.

Zwei neue Extraktionsapparate für Flüssigkeiten.

Von

F. C. ten Doornkaat Koolman.

(Aus dem technisch-wissenschaftlichen Laboratorium II. des Instituts für Gärungsgewerbe, Berlin.)

(Eingegangen am 23. Juni 1911.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die Bestimmung ätherlöslicher Körper in organischen Substanzen ist wohl in den meisten Fällen ohne besondere Schwierigkeiten möglich, namentlich da, wo es sich um feste Substanzen handelt.

Freilich bietet die quantitative Bestimmung einzelner organischer Säuren, die in Äther nur schwer löslich sind, noch manche Schwierigkeiten, besonders wenn die Säuren sich in starker Verdünnung befinden und wenn das Eindampfen der Flüssigkeit nach vorheriger Neutralisation der Säuren auf ein geringes, leicht zu bearbeitendes Quantum aus analytischen Gründen unmöglich ist.

Für größere Mengen auszuäthernder Flüssigkeiten fehlen in bestimmten Fällen geeignete Extraktionsapparate.

A. Der erste der nachfolgend beschriebenen Apparate wurde in Anlehnung an den von Schacherl (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel 1901, 673 ff.) beschriebenen Apparat konstruiert, dessen zylindrische Form den aufsteigenden Ätherperlen einen möglichst langen Weg durch die zu extrahierende Flüssigkeit bieten sollte.

Um eine genügende Extraktion zu ermöglichen, wurde die Flüssigkeit vermittels Luft in Bewegung gebracht und aufgerührt. Zu diesem Zwecke wurde an der tiefsten Stelle des

Zylinders *L* eine Düse mit Hahn angebracht, durch die vermittels eingedrückter Luft eine dauernde Bewegung und Mischung ermöglicht wurde.

Die zu extrahierende Flüssigkeit befindet sich in dem zylindrischen Gefäß (s. Fig. 1), das bis ungefähr zum Halsansatz gefüllt wird. Der Äther befindet sich im Kölbchen *B* und fällt, durch einen Kühler kondensiert, in den Trichter *C*. Aus diesem tritt er aus den Düsen *G* aus und durchstreicht in kleinen Perlen die Flüssigkeit, worauf er sich oben ansammelt und durch das seitliche Rohr *D* in das Kölbchen zurückfließt. Der Trichter *C* hat am Rande mehrere Nuten, damit die aufsteigenden Ätherdämpfe vorbeistreichen können.

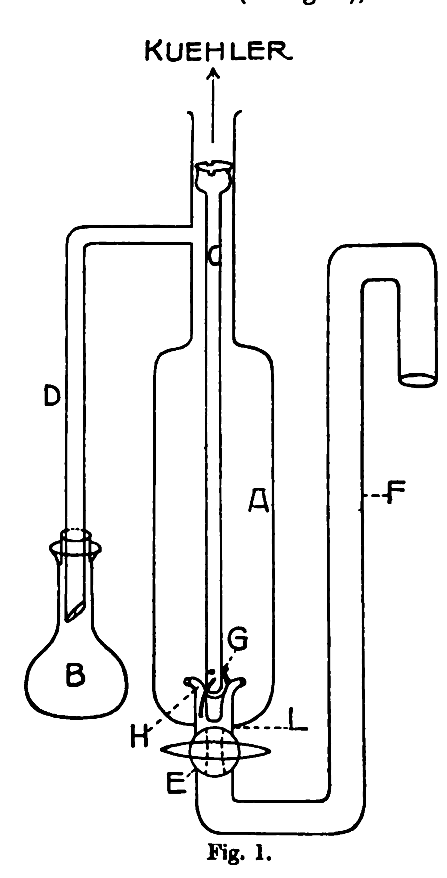


Fig. 1.

Das Rohr *F* dient zum Anschluß an eine Druckluftleitung; die Luftzufuhr wird durch den Hahn *E* geregelt.

B. Da indes auch dieser Apparat bei der geringen Ätherlöslichkeit der zu extrahierenden Substanzen bei den in Frage stehenden Untersuchungen keine absolut quantitativen Resultate ergab, wurde versucht, unter Benutzung der von Partheil (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel 4, 1901) zur Konstruktion eines Perforators angewandten Idee einen Ätherextraktionsapparat zu bauen.

Die Wirkungsweise ist folgende:

Die zu extrahierende Flüssigkeit befindet sich in der Schlange *S* (s. Fig. 2), die durch ein Rohr von bedeutend kleinerem Durchmesser als sie selbst mit dem Trichter *T* ver-

bunden ist. Die sich in dem Kölbchen *A* entwickelnden Dämpfe steigen durch das Rohr *Z* in den Kühler und der Äther tritt durch das Rohr *E* bei *U* in die Schlange, steigt in dieser in Perlen in der Flüssigkeit auf, sammelt sich in *D* und fließt von hier nach *A* zurück.

Um nun nach jedesmaligem Gebrauch den ziemlich großen und nicht sehr festen Apparat nicht aus dem Stativ nehmen zu müssen, um die extrahierte Flüssigkeit entfernen zu können, befindet sich an der tiefsten Stelle der Schlange ein Hahn H_2.

Der Kühler *K* kann auf den Einlaufstrichter vermittels Gummistopfen aufgesetzt werden, doch empfiehlt sich hier ein Glasschliff oder noch besser wird der Kühler gleich an den Apparat angeblasen, wodurch jeder Ätherverlust vermieden wird. Als Kühler genügt ein einfacher Kugelkühler mit 5 bis 6 Kugeln, doch leistet ein Soxhletscher Metallkühler auch gute Dienste.

Bei angeblasenem Kühler geschieht die Füllung des Apparates durch einen seitlich angebrachten Trichter mit Hahn, oder vermittels eines Trichters, der durch den Kühler bis in das Rohr *E* ragt.

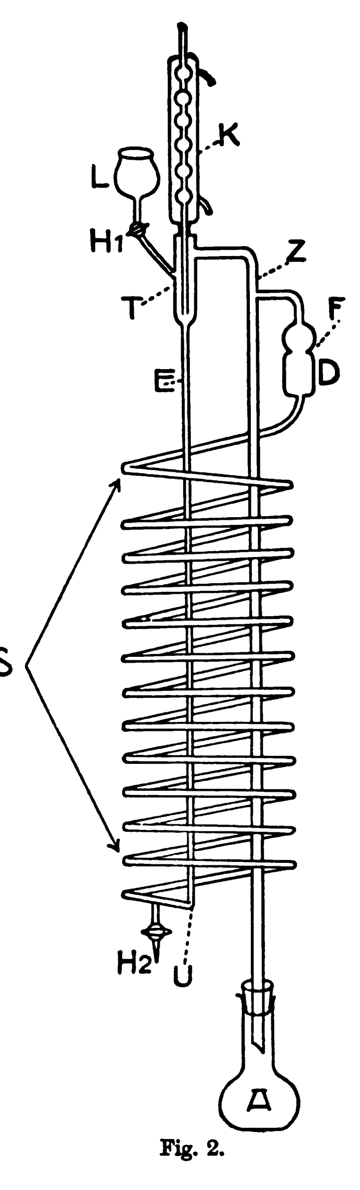


Fig. 2.

Die Kugeln *D*, die sich am oberen Ende der Schlange *S* befinden, dienen dazu, die Flüssigkeitsteilchen, die mit den aufsteigenden Ätherperlen mitgerissen werden, sich absetzen zu lassen: die Einschnürung *F* soll diese Wirkung noch erhöhen.

Die untere der beiden Kugeln hat zylindrische Form, damit die Ätherperlen die Flüssigkeit möglichst ganz durchstreichen, falls dieselbe noch in der Kugel steht. Der Inhalt der Hohlkörper kann bis auf 1000 ccm gesteigert werden[1]).

Ausgedehnte Versuche über die Leistungsfähigkeit dieses Apparates ergaben Resultate, die als quantitative Werte, auch bei zwei parallel arbeitenden Apparaten, als durchaus hinreichend bezeichnet werden können, was bei der geringen Ätherlöslichkeit mancher Körper, die bei den Versuchen zur Anwendung kamen, mit Apparaten anderer Konstruktionen bisher nicht zu erreichen war.

[1]) Der Apparat wird von der Glasbläserei des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin N, Seestraße, in der Originalkonstruktion hergestellt.

Über die Reaktionen zwischen Fermenten und Antifermenten.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juni 1911.)

Früher[1]) habe ich gezeigt, daß das durch Serum inaktivierte Labferment durch Zufügung von Salzsäure wieder aktiviert wird. Im Anschluß an diese Beobachtung und noch nach einer anderen Richtung habe ich die Beziehungen des Lab zum Antilab weiter verfolgt.

I.

Mischt man eine Lablösung mit entsprechenden Serummengen und setzt gleichzeitig oder unmittelbar danach dem Gemisch Salzsäure zu, so wird die Antilabwirkung beseitigt und die Labwirkung wird wieder erkennbar.

Von demselben ausgezeichneten Labpräparat, das mir seinerzeit die Firma Witte-Rostock freundlichst zur Verfügung gestellt hatte, wird für jeden Versuch eine frische, wässerige Lösung hergestellt. Zunächst wird 0,1 g in 100 ccm Aqu. dest. gelöst. Von dieser Stammlösung wird dann 1 ccm auf 50 ccm mit destilliertem Wasser verdünnt. 1 ccm dieser Lösung enthält also 0,00002 g = $^1/_{50}$ mg. Eine solche Lösung werden wir im folgenden als $^1/_{50}$-Lablösung bezeichnen.

Als Antilab wird in allen Versuchen dieser Mitteilung dasselbe Pferdeserum benutzt. Das Serum war frisch mit Toluol versetzt und ständig im Eisschrank aufbewahrt worden. Da wir über die chemische Natur der labhemmenden Serumsubstanzen kaum etwas wissen, schien es mir richtiger, alle labhemmenden Stoffe des Serums zu verwerten. Infolgedessen habe ich das Serum in toto verwandt und auf die Beseitigung der dialysablen Bestandteile verzichtet. Das Serum kam erst

[1]) Diese Zeitschr. 1, 1906 und 8, 1908.

mehrere Wochen nach seiner Gewinnung zur Anwendung und bewahrte während der 6monatlichen Versuchszeit die gleiche Wirkungsstärke.

Für die zuerst geschilderten Versuche wird 1 ccm Serum mit 0,85 % iger Kochsalzlösung auf 40 ccm verdünnt. Wir sprechen dann in der Folge von $^1/_{40}$-Serum.

Immer wurde in der üblichen Weise durch Auffüllung die gleiche Salzkonzentration hergestellt, indem bei Anwendung wechselnder Mengen wässeriger Flüssigkeit die gleiche Verdünnung durch Zufügung von Wasser, bei Anwendung von verdünntem Serum mit 0,85 % iger Kochsalzlösung die gleiche Verdünnung erzielt wurde.

Die Labauswertung wurde nach Morgenroth vorgenommen. Die immer aus derselben Quelle bezogene Milch wurde sofort mit Chloroform versetzt und im Eisschrank aufbewahrt; sie wurde im vorgekühlten Zustande den fertigen Gemischen zugesetzt, pro Reagensglas je 5 ccm. Die Reagensglasgestelle kamen dann 20 bis 24 Stunden in den Eisschrank bei ca. 8° und endlich für 2 Stunden in den Brutschrank bei 37°.

Wir geben zunächst einen Versuch wieder, der die Wirkung der unmittelbar nach der Mischung zugefügten Salzsäure zeigt. In alle Gläser kommt 1 ccm Lab = $^1/_{50}$ mg, Serum ansteigend von 0 bis 1 ccm $^1/_{40}$. — In der zweiten Reihe wurden den Gemischen in allen Gläsern vor dem Milchzusatz je 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl zugefügt.

1.	Labung	2.		Labung
0 ccm Serum $^1/_{40}$	+	0 ccm Serum $^1/_{40}$	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,1 „ „ „	+	0,1 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,2 „ „ „	—	0,2 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,3 „ „ „	—	0,3 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,4 „ „ „	—	0,4 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,5 „ „ „	—	0,5 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,6 „ „ „	—	0,6 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,7 „ „ „	—	0,7 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,8 „ „ „	—	0,8 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
0,9 „ „ „	—	0,9 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+
1,0 „ „ „	—	1,0 „ „ „	+ 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl	+

In weiteren Versuchen wurden den Lab-Antilabgemischen 1 und $1^1/_2$ Stunden nach der Mischung 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl zugesetzt. Je eine Reihe wurde bei Zimmertemperatur belassen, eine zweite dieselbe Zeit im Brutschrank bei 37° gehalten, bevor die Salzsäure zugefügt wurde. Dann wurden die Gemische abgekühlt, die vorgekühlte Milch zugefügt und wie immer weiterhin verfahren. Überall trat prompt Labung ein.

In anderen Versuchen wurden einer Reihe nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank je 0,2 ccm

Aqu. destill., einer zweiten Reihe je 0,2 ccm $^{n}/_{10}$-HCl zugesetzt. Auch hier trat stets in der Salzsäurereihe Labung ein. Gelegentlich wurden allerdings Unregelmäßigkeiten beobachtet, als einige Röhrchen ungelabt blieben, wie z. B. im folgenden Versuch:

Lab $^{1}/_{50}$ — Serum $^{1}/_{40}$ — nach 24 Stunden.

1. Reihe 0,2 ccm H_2O, 2. Reihe 0,2 ccm HCl ($^{n}/_{10}$).

1.		2.	
0 bis 0,1 ccm Serum	+	0 bis 0,3 ccm Serum	+
0,2 „ 1,0 „ „	—	0,4 „ 0,5 „ „	—
		0,6 „ „	+
		0,7 „ „	—
		0,8 „ 0,9 „ „	+
		1,0 „ „	—

Die Angabe von Morgenroth[1]) und Hedin[2]), daß Salzsäure den Serum-Antikörper zerstört, kann ich bestätigen. Denn ich fand, daß Neutralisierung der Säure durch Lauge die Antikörperwirkung nicht wieder hervortreten läßt, wenn erst die Säure einige Zeit zur Wirkung gehabt hat.

Lab $^{1}/_{50}$ — Serum $^{1}/_{40}$.

Zwei Reihen werden mit je 0,2 ccm HCl versetzt. Nach 30 Minuten werden in der ersten Reihe zu jedem Röhrchen 0,2 ccm H_2O, in der zweiten Reihe 0,2 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH getan.

1.		2.	
0 bis 1,0 Serum	+	0 bis 0,6 ccm Serum	+
		0,7 „ „	—
		0,8 „ 1,0 „ „	+

Die Zerstörung des Antikörpers braucht jedoch eine gewisse Zeit. Denn 15 Minuten genügten nicht, indem unter diesen Bedingungen nur das Röhrchen ohne Serum gelabt wurde, alle übrigen aber ungelabt blieben.

Die Salzsäure zerstört nur eine begrenzte Antifermentmenge. Demnach kann man in dünnen Ferment-Antifermentgemischen relativ viel größere Antikörperüberschüsse ausschalten als in konzentrierten Gemischen.

Setzt man zu einem Gemisch, in dem man durch Salzsäure die Antilabwirkung aufgehoben hat, nachdem man die Säure durch Lauge neutralisiert hat, von neuem Serum, so erhält

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1909, 758.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 1909.

man wieder Antilabwirkung. Die Eigenschaft des Labs, durch Antilab inaktivierbar zu sein, ist also durch die Antilabreaktion entweder nicht zerstört worden oder zum mindesten nicht dauernd verloren gegangen.

II.

Schon bei der ersten Mitteilung meiner Versuche über die Einwirkung der Salzsäure auf die Lab-Antilabgemische hatte ich erwähnt, daß ich begonnen hatte, diese Methode zur Isolierung etwa bestehender Ferment-Antifermentverbindungen resp. zur Isolierung des Enzyms auf dem Umwege der Verbindung zu benutzen. Da aus den oben geschilderten Versuchen eine ziemlich erhebliche Widerstandsfähigkeit des Lab-Antilabgemisches hervorging und namentlich sich herausstellte, daß die Aktivierung durch Säure noch nach längerer Zeit möglich ist, habe ich im Laufe des vorigen Jahres die Versuche wieder aufgenommen und zunächst das Verhalten der Gemische gegen Äther untersucht.

In Vorversuchen wurde nur die Lablösung resp. das Antilabserum mit Äther behandelt und dann die wässerige Fraktion resp. der in Wasser oder Kochsalzlösung aufgenommene Ätherrückstand auf seinen Ferment- oder Antifermentgehalt im Vergleich zu der Ausgangslösung geprüft. Es sei gleich bemerkt, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen beide Faktoren für sich allein, also Ferment wie Antiferment, sich als durchaus ätherunlöslich erwiesen. Die Lösungen wurden mit etwa der dreifachen Menge Äther 3 bis 5 mal im Schütteltrichter kräftig geschüttelt, der Äther nach der Abtrennung entweder direkt an der Luft oder nach Anwärmung auf der elektrischen Kochplatte verdunstet. Es wurde niemals eine Abnahme der Wirkung im wässerigen Anteil und ebensowenig die Andeutung einer Wirkung im Ätheranteil bemerkt.

Nunmehr gebe ich einige Versuche wieder, die zeigen, daß auch das System Lab-Antilab im Wasser gelöst bleibt und nicht in den Äther übergeht.

I. 100 ccm Lab $^1/_{100}$ (also eine Lösung, die in 1 ccm 0,01 mg Lab enthält) werden mit 80 ccm Serum $^1/_{80}$ (also einem Serum, das mit 0,85 $^0/_0$ iger Kochsalzlösung 80 fach verdünnt ist) gemischt. Nach 15 Minuten werden 2 Portionen à 50 ccm des Gemisches 5 mal mit Äther (Aether purissimum Pictet) kräftig ausgeschüttelt. Die wässerigen An-

teile werden bis zum nächsten Tage im Eisschrank aufbewahrt, der Äther über Nacht bei Zimmertemperatur der Verdunstung überlassen. Am nächsten Vormittag wird der eine Ätherrückstand in 50 ccm einer Lösung aufgenommen, die durch Mischung von 100 ccm Wasser und 80 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung hergestellt war. Wir werden sie im folgenden Kochsalzwasser nennen. Der andere Ätherrückstand wird in dem einen wässerigen Anteil aufgenommen.

Nunmehr werden 4 Reihen angesetzt:

1. eine als Original bezeichnete, in der steigende Mengen des Stammgemisches in die Gläser getan werden;

2. eine als Gemisch bezeichnete, bei der von der Mischung beider Fraktionen steigende Mengen eingefüllt werden;

3. eine als Wasser bezeichnete, bei der steigende Mengen der Wasserfraktion allein verwandt wurden;

4. eine als Äther bezeichnete, bei der steigende Mengen der Ätherfraktion allein benutzt wurden.

Überall wurde durch Auffüllung dieselbe Konzentration hergestellt und schließlich in jedes Gläschen 0,2 ccm $^{n}/_{10}$-HCl getan. Wie immer, wurde dann zum Schluß nach Vorkühlung der Röhrchen die gekühlte Milch (5 ccm) zugesetzt.

Bei diesem Versuche waren keine Parallelreihen angestellt worden in denen anstatt 0,2 ccm HCl 0,2 ccm H_2O zugesetzt wurden. Das war aber in sehr zahlreichen Versuchen geschehen. Niemals kam ohne den Salzsäurezusatz auch nur in einem einzigen Röhrchen eine Labung zustande.

Ergebnis.

1. Original: 0—0,1—0,5 keine Labung; 1,0—1,1—1,2—1,4—1,6—1,8—1,9—2,0 Labung.

2. Gemisch: 0—0,1—0,5 keine Labung; 1,0 Spur; 1,1 gering; 1,2—1,4—1,6—1,8—1,9—2,0 Labung.

3. Wasser: 0—0,1—0,5 keine Labung; 1,0—1,1—1,2—1,4—1,6—1,8—1,9—2,0 Labung.

4. Äther: Nirgends Labung.

II. 80 ccm Lab $^1/_{100}$ werden mit 80 ccm Serum $^1/_{80}$ gemischt. Wiederum werden 2 mal je 50 ccm ausgeäthert und dann wie im vorigen Versuche verfahren.

Ergebnis.

1. Original: 0—0,1 keine Labung; 0,5 geringe Labung; von 1,0 an Labung.

2. Gemisch: 0—1,0 keine Labung; 1,1 Spur; 1,2 geringe Labung; von 1,4 an Labung.

3. Wasser: Von 1,4 an Labung.

4. Äther: Nirgends Labung.

III. 45 ccm Lab $^1/_{100}$ werden mit 45 ccm Serum $^1/_{80}$ gemischt. Von dem Gemisch werden 2 Portionen à 40 ccm ausgeäthert.

1. Gemisch: 1,4 fast komplette Labung; von 1,6 an Labung.
2. Wasser: 1,4 geringe Labung; von 1,6 an Labung.
3. Äther: Nirgends Labung.

Zu allen drei Reihen wurden Parallelreihen mit 0,2 ccm Wasser anstatt 0,2 ccm HCl angesetzt. Nirgends trat Labung ein.

In mehreren Versuchen wurden allerdings abweichende Verhältnisse angetroffen. Es wurde nämlich außer dem Ätheranteil auch der wässerige Anteil vollkommen unwirksam gefunden. Es ist mir bisher nicht gelungen, die Ursache dieser Abweichung aufzuklären. Hinweise auf eine Möglichkeit der Erklärung geben Versuche, bei denen das Gemisch beider Fraktionen eine sehr starke Wirkung zeigte, während die wässerige nur sehr schwach und die ätherische gar nicht wirkte. Daß hier noch Komplikationen möglich sind, zeigt auch ein vereinzelter Versuch, bei dem der Zusatz des ätherischen, wirkungslosen Anteils die starke Wirkung der Wasserfraktion ganz aufhob. Um die von der Norm abweichenden Resultate verständlich zu machen, hatte ich an die Möglichkeit gedacht, daß die Ätherbehandlung an einer anderen Stelle des Systems als gerade an der Grenze zwischen Lab und Antilab trennend eingreift. Die Erklärung des Versuchs, bei dem der Ätheranteil die Wirkung des Wasseranteils aufhob, würde auch keine Schwierigkeit bedeuten. Jedoch können wir auf die Unregelmäßigkeiten keinen besonderen Wert legen, da wir sie nicht willkürlich reproduzieren können. Daß ein Antigen-Antikörpersystem bei Einwirkung eines neuen Agens sich an anderer Stelle spaltet, ist übrigens nicht ohne Analogon. Wenigstens ist das die Anschauung Friedbergers bei der Anaphylatoxinbildung infolge der Einwirkung von Komplement auf Antigen-Antikörperbindungen.

Sehen wir von den noch schwankenden Punkten ab, so ist jedenfalls sicher, daß das Lab-Antilabsystem ebenso wie beide Faktoren für sich allein unlöslich in Äther ist.

III.

Seitdem man die Antifermente kennen gelernt hat, interessierte man sich für die Frage, ob dieselbe Gruppierung des Fermentmoleküls für die Enzymfunktion und für die Reaktion mit dem Antikörper von Bedeutung ist. Bekanntlich ist dieses Problem auch vom Standpunkte der Ehrlichschen Seitenkettentheorie aus betrachtet worden. Ich werde an dieser Stelle auf diese Seite der Frage, über die ich mich früher schon ausführlich geäußert habe, nicht eingehen, sondern nur eine hierher gehörige, neue experimentelle Tatsache mitteilen.

Bekanntlich haben vor einiger Zeit S. und S. Schmidt-Nielsen[1]) entdeckt, daß Lablösungen durch Schütteln ab-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 1909; 68, 1910. — Zeitschr. f. physikal. Chem. 69, 1909.

geschwächt werden. Sie unterscheiden dabei einen physikalischen Anteil, indem durch das Schütteln ein Teil des Enzyms in die Schaumschicht abgeschieden wird. Daneben kann auch das Enzym chemisch beim Schütteln durch die Einwirkung der in der Flüssigkeit vorhandenen übrigen Substanzen und durch Temperatureinflüsse während der Schüttelzeit geschädigt werden.

In Gemeinschaft mit Schütze habe ich[1]) gezeigt, daß die Schüttelmethode auch für die Umwandlung der Antigene anwendbar ist. Es zeigte sich, daß Komplementserum bei $1^1/_2$ stündigem Schütteln bei 37° inaktiv wird. Besonders bemerkenswert ist, daß die beiden Komponenten des Komplements bei dieser Inaktivierung nicht dauernd vernichtet werden, sondern jede für sich in der inaktivierten Flüssigkeit nachweisbar ist.

Nach diesen Erfahrungen erschien es mir aussichtsvoll, zu untersuchen, ob die beiden Funktionen des Labferments durch die Schüttelinaktivierung gleich oder ungleich beeinflußt werden. Es war also zu prüfen, ob eine Verschiebung zwischen der Labfunktion und der Neutralisierbarkeit durch Serum durch die Schüttelung bewirkt wird. Umfangreiche Versuchsreihen haben mich belehrt, daß keine vollständige Parallelität besteht, wodurch also neues Material für die genauere Kenntnis der Beziehung der Fermente zu den Antifermenten gewonnen wird.

Auf eine Trennung der physikalischen und chemischen Beeinflussung habe ich mich bei meinen Versuchen nicht eingelassen. Wenn Schaumbildung eingetreten war, wurde erst die Auflösung des Schaumes abgewartet, bevor der Versuch verarbeitet wurde. So dürften wohl hauptsächlich die chemischen Wirkungen maßgebend gewesen sein. Die Schüttelungen wurden in einem Thermostaten vorgenommen, dessen Temperatur während der Schüttelzeit sich zwischen 37 und 39° hielt. Vollkommene Temperaturkonstanz während der Schüttelung ließ sich nicht durchführen, weil vom Motor aus beim Schütteln eine geringe Erwärmung des Innenraums des Thermostaten eintritt. Das ist aber für unsere Versuche durchaus ohne Belang, weil niemals die Resultate zweier Versuche miteinander verglichen wurden. Immer wurde zur Kontrolle eine Probe derselben Lablösung, die geschüttelt wurde, der gleichen Tem-

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1909. — Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 4, 1910.

peratur im Brutschrank ausgesetzt und die beiden Proben, die sich also nur durch Schütteln oder Nichtschütteln voneinander unterschieden, verglichen. Die absolute Abschwächung der Labwirkung fiel in den einzelnen Versuchen verschieden stark aus, häufig war sie gering. Da die Rückbildung des Schaumes abgewartet wurde und auch die Kontrolle der abschwächenden Wirkung der Brutschranktemperatur ausgesetzt war, ist das auch nicht weiter wunderbar.

In den eigentlichen, uns hier interessierenden Versuchen wurden nun die geschüttelte Lablösung und die Kontrollösung mit verschiedenen Mengen Serum versetzt und untersucht, wieviel Serum jedesmal notwendig ist, um dieselben Mengen einfach labender Fermentmengen gerade vollständig zu neutralisieren. Als einfach labende Fermentmenge wurde die geringste Labmenge bezeichnet, die 5 ccm Milch unter den gewählten Bedingungen deutlich zur Gerinnung brachte. Die Titrierung des Serums erfolgte aber selbstverständlich im Interesse der exakten Auswertung nicht gegenüber der einfach labenden Fermentmenge, sondern gegenüber einem Vielfachen davon.

In den folgenden Versuchen wurde immer die Lablösung 2 Stunden geschüttelt.

1. 0,2 ccm $^1/_{100}$-Schüttel-Lab ist die kleinste labende Dosis;

0,1 ccm $^1/_{80}$-Serum (weniger wurde nicht geprüft) neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Schüttel-Lab.

0,2 ccm $^1/_{100}$-Kontroll-Lab ist die kleinste labende Dosis,

0,3 ccm $^1/_{80}$-Serum neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Kontroll-Lab.

Ergebnis: 2 ccm $^1/_{80}$-Serum neutralisieren mindestens 100 Dosen Schüttel-Lab;

6 ccm $^1/_{80}$-Serum neutralisieren 100 Dosen Kontroll-Lab,
oder 100 Dosen Schüttel-Lab werden durch 0,025 Serum oder weniger,
oder 100 Dosen Kontroll-Lab werden durch 0,075 Serum neutralisiet,
oder 1 ccm Serum neutralisiert mindestens 4000 Schüttel-Einheiten,
1 ccm Serum neutralisiert 1333 Kontroll-Einheiten.

2. 0,3 ccm $^1/_{100}$-Schüttel-Lab ist die kleinste, labende Dosis,

0,3 ccm $^1/_{100}$-Serum neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Schüttel-Lab;

0,2 ccm $^1/_{100}$-Kontroll-Lab ist die kleinste labende Dosis,

0,6 ccm $^1/_{160}$-Serum neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Kontroll-Lab.

Ergebnis: 9 ccm $^1/_{160}$-Serum neutralisieren 100 Dosen Schüttel-Lab;

12 ccm $^1/_{160}$-Serum neutralisieren 100 Dosen Kontroll-Lab.
oder 100 Dosen Schüttel-Lab werden durch 0,055 Serum,
oder 100 Dosen Kontroll-Lab werden durch 0,075 Serum neutralisiert;
oder 1 ccm Serum neutralisiert 1818 Dosen Schüttel-Lab,
oder 1 ccm Serum neutralisiert 1333 Dosen Kontroll-Lab.

3. 0,7 ccm $^1/_{200}$-Schüttel-Lab ist die kleinste labende Dosis,
0,3 ccm $^1/_{160}$-Serum neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Schüttel-Lab:
0,5 ccm $^1/_{200}$-Kontroll-Lab ist die kleinste labende Dosis,
0,4 ccm $^1/_{80}$-Serum neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Kontroll-Lab.
Ergebnis: 10,7 ccm $^1/_{160}$-Serum neutralisieren 100 Dosen Schüttel-Lab;
20 ccm $^1/_{160}$-Serum neutralisieren 100 Dosen Kontroll-Lab,
oder 100 Dosen Schüttel-Lab werden durch 0,067 ccm Serum,
oder 100 Dosen Kontroll-Lab werden durch 0,125 ccm Serum neutralisiert;
oder 1 ccm Serum neutralisiert 1495 Dosen Schüttel-Lab,
oder 1 ccm Serum neutralisiert 800 Dosen Kontroll-Lab.

4. 0,7 ccm $^1/_{200}$-Schüttel-Lab ist die kleinste labende Dosis,
0,2 ccm $^1/_{320}$-Serum neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Schüttel-Lab;
0,4 ccm $^1/_{200}$-Kontroll-Lab ist die kleinste labende Dosis,
0,3 ccm $^1/_{80}$-Serum neutralisiert 1 ccm $^1/_{100}$-Kontroll-Lab.
Ergebnis: 6,9 ccm $^1/_{320}$-Serum neutralisieren 100 Dosen Schüttel-Lab;
24 ccm $^1/_{320}$ Serum neutralisieren 100 Dosen Kontroll-Lab
oder 100 Dosen Schüttel-Lab werden durch 0,0215 ccm Serum,
oder 100 Dosen Kontroll-Lab werden durch 0,075 ccm Serum neutralisiert;
oder 1 ccm Serum neutralisiert 4651 Dosen Schüttel-Lab,
oder 1 ccm Serum neutralisiert 1333 Dosen Kontroll-Lab.

Um die Resultate übersichtlich darzustellen, seien sie in eine kleine Tabelle eingeordnet. Die Zahlen geben die Quantität Serum an, die 100 Dosen neutralisieren.

Tabelle I.

Versuch Nr.	Datum	Schüttel-Lab	Kontroll-Lab	Bemerkungen
1	20. XII.	0,025	0,075	sofort geprüft.
2	22. XII.	0,055	0,075	„ „
3	30. XII.	0,067	0,125	nach 24 Stunden geprüft.
4	2. I.	0,0215	0,075	sofort geprüft.

Alle 4 Versuche zeigen also übereinstimmend, daß **das Schüttel-Lab durch weniger Serum neutralisiert wird als das Kontroll-Lab.** Dabei ist bemerkenswert, daß in den Versuchen 1, 2 und 4, obwohl sie zeitlich ziemlich auseinanderliegen, die Kontrollen die gleichen Werte ergaben. Die Abweichung im Versuch 3 wird hinreichend dadurch erklärt, daß die Lösungen nach der Schüttelung und dem Brutschrankaufenthalt erst 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt wurden, bevor ihre Neutralisierung durch Serum geprüft wurde. Es ist

schon lange bekannt, daß Toxine und Fermente in Lösungen sich in der Richtung verändern, daß sie inaktiver werden, aber dennoch die gleiche Serummenge zur Neutralisation brauchen. Tatsächlich war auch hier eine Abschwächung eingetreten, wie eine Zusammenstellung der Werte zeigt. Als Original-Lab wird die Lösung (0,1 g Lab in 100 ccm Wasser) bezeichnet, die am 29. XII. hergestellt und ohne jede Beeinflussung im Eisschrank aufbewahrt wurde.

Tabelle II.

	29. XII.	30. XII.
Original-Lab . . .	0,5 ccm $^1/_{500}$	0,8 ccm $^1/_{500}$
Kontroll-Lab . .	0,1 ccm $^1/_{100}$ oder weniger	0,5 ccm $^1/_{200}$
Schüttel-Lab . .	0,1 ccm $^1/_{100}$ „ „	0,7 ccm $^1/_{200}$

Das hier beobachtete Phänomen würde in der Ehrlichschen Nomenklatur so auszudrücken sein, daß durch die Schüttelung Fermentoide aus der Lösung entfernt werden, die Lösung also durch das Schütteln verhältnismäßig reicher an vollständigen Fermentmolekülen wird, während die Abbauprodukte verschwinden. Ein ähnlicher Vorgang ist mir nur in einem einzigen Beispiele bekannt. Beim Ricin habe ich[1]) beobachtet, daß durch geeignete Behandlung mit Pepsinsalzsäure die Giftigkeit nicht abnimmt, die gleiche Giftquantität aber durch weniger Serum neutralisiert wird. Es wird Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, zu prüfen, ob die Schüttelung auch bei anderen Fermenten und besonders auch bei den eigentlichen Toxinen ähnlich wie beim Lab auf die Reaktion mit Serum einwirkt. Übrigens ist nur auf die Tatsache Wert zu legen, die Wiedergabe der Resultate, auch nach dem Schema der Hypothesen, soll nur die Verständigung erleichtern.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 1901.

Über die Bindung des Tetanustoxins. II.

Von

Siegfried Loewe.

(Aus dem chemischen Laboratorium der psychiatr. Klinik und dem physikal.-chem. Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 30. Juni 1911.)

Mit 3 Figuren im Text.

In einer kürzlich erfolgten Mitteilung[1]) wurde unter anderem die Unzulänglichkeit des Wassermannschen Tetanustoxinbindungsversuchs auseinandergesetzt, bestimmte hypothetische Anschauungen über das Wesen von Toxinbindung und Immunitätsreaktion zu stützen. Es wurde dort gezeigt, daß der Wassermannsche Versuch noch keine Gewähr dafür leistet, daß das Tetanustoxin innerhalb des Gehirns wirklich gerade zu derjenigen chemischen Substanz in Beziehungen tritt, die der theoretischen Forderung nach die Grundlage der tetanischen Krankheitsäußerung sein müßte, daß vielmehr eine größere Anzahl verschiedenartiger Substanzen innerhalb der gesamten Gehirnsubstanz, außerdem auch zahlreiche nicht am Aufbau des Gehirns beteiligte Substanzen, die Fähigkeit besitzen, Tetanustoxin aus einer wässerigen Lösung zum Verschwinden zu bringen; es wurde dort aber auch weiter auseinandergesetzt, daß man, um den Wassermannschen Bindungsversuch wirklich im Sinne einer wohl ausgearbeiteten Theorie verwerten zu können, noch den Nachweis führen müßte, daß die Bindung des Tetanustoxins durch Gehirnsubstanz denjenigen Gesetzen gehorcht, die nach der durch diesen Bindungsversuch angeblich gestützten[2])

---

[1]) S. Loewe, diese Zeitschr. 33, 225, 1911.

[2]) Vgl. hierüber u. a. Paul Ehrlich, Beitr. z. experim. Pathol. u. Chemotherapie 1909, S. 14. Leipzig.

Theorie für solche Reaktionen geltend sein sollen. Diese Theorie, die Ehrlichsche Seitenkettentheorie, setzt voraus, daß die Vorgänge dieser Art den Gesetzen der Bildung einer echten chemischen Verbindung unterliegen, und zwar soll die Affinität, auf Grund deren diese Reaktionen erfolgen, eine jeweils spezifische, „maximale" sein („Verankerungsaxiom"). Es wurde nun bereits damals darauf hingewiesen, daß man für die Bindung des Tetanustoxins durch Gehirnsubstanz auch andere als rein chemische Reaktionen in den Bereich der Diskussion ziehen muß, daß sogar manche Umstände von vornherein das Vorliegen einer solchen nicht ganz wahrscheinlich erscheinen lassen. Landsteiner[1]), der, wohl als Erster, die Bedeutung der Lipoide, und zwar vor allem der Protagonfraktionen, für die Tetanusbindung dargetan hat, hat gleichzeitig auch schon, besonders bei Gelegenheit der von ihm als tetanusbindend gefundenen Fettsäuren und anorganischen Materialien, an außerchemische Faktoren gedacht und, wenn auch ohne exakten Beweis, die Adsorption dafür in Anspruch genommen.

Im folgenden wird nun unternommen, die Reaktionsgesetze, die für den Wassermannschen Versuch gelten, genauer zu ermitteln. Die drei bereits in der früheren Untersuchung diskutierten Möglichkeiten, in denen die Frage ihre Lösung finden konnte, waren 1. chemische Reaktion, 2. Adsorption oder 3. Verteilung. Die Entscheidung mußte die Feststellung der Beziehungen zwischen der aufgenommenen Toxinmenge A und der in Lösung zurückgebliebenen Toxinmenge Z bei Veränderung der Konzentration c der wässerigen Toxinlösung, d. h. also die Aufstellung der A/Z-Kurve, bringen. Unter jeder der drei möglichen Verlaufsarten mußte diese Funktion in einer anderen charakteristischen Kurve verlaufen. Für den Fall der chemischen Verbindung ist die Art der Konzentrationskurve vorbestimmt durch das Massenwirkungsgesetz, das für das Gleichgewicht im vorliegenden Fall:

$$\frac{(\text{Toxin})^n \cdot (\text{Gehirnsubstanz})^m}{(\text{Verbindung beider})^q} = \frac{k}{k'} = K$$

---

[1]) Landsteiner und Eisler, Wiener klin. Wochenschr. 1905 und Centralbl. f. Bakt. 1905. — Derselbe und Jagic, Münch. med. Wochenschr. 1904. — Derselbe und Botteri, Centralbl. f. Bakt. 1, 42, 562.

lauten würde. Der genauere Krümmungsverlauf wäre zunächst von der Größe der Gleichgewichtskonstanten K abhängig, die ihrerseits bekanntlich wieder ein Maß für den Affinitätsgrad darstellt. Selbst wenn also im vorliegenden Falle eine Kurve resultieren würde, die nach dem Massengesetz deutbar wäre, so würde man doch, um die Voraussetzung der Seitenkettentheorie, nämlich die „maximale chemische Verwandtschaft", bestätigt zu sehen, eine hohe Gleichgewichtskonstante fordern müssen.

Bekanntlich sind von Arrhenius[1]) für manche Immunreaktionen Konzentrationskurven wiedergegeben worden, die keineswegs diesen Anforderungen entsprechen und über deren Deutung insofern noch keine vollkommene Einigung besteht, als er selbst sie als chemische Reaktionen in weiterem Sinne auffaßt — wobei die Voraussetzung einer weitgehenden Inkonstanz einzelner oder aller Faktoren des Massenwirkungsgesetzes gemacht werden muß —, während Vorgänge mit so geartetem Verlauf von anderen Seiten auf capillare, nicht chemische Reaktionen, d. h. auf Adsorption, zurückgeführt und aus oberflächenenergetischen Ursachen erklärt werden. Würden also solche Kurven, die eine parabolische Verlaufsart zeigen, für den Vorgang der Tetanustoxinbindung gefunden werden, so würden sie zunächst einmal ohne weiteres die Aufstellung der Seitenkettentheorie, die in der hohen chemischen Affinität gipfelt, für die Bindung des Tetanustoxins widerlegen; um diese überhaupt noch als chemische Reaktion, wenn auch in dem weiteren Sinne, gelten zu lassen, müßte man die nicht ohne weiteres einzusehende Voraussetzung einer weitgehenden Inkonstanz der „Bodenkörper" (wechselnde Löslichkeit der Gehirnsubstanz, teilweise Dissoziierbarkeit oder wechselnde Löslichkeit der hypothetischen Toxinverbindung) machen und man würde dann vielleicht besser sich der Anschauung derer[2]) anschließen, die solche Kurven als Adsorptionskurven auffassen, einer Anschauung, die mehr und mehr an Boden zu gewinnen scheint, und deren größere Beweiskraft auseinanderzusetzen hier nicht der Platz ist.

Mit voller Sicherheit kann man das Vorliegen einer begrifflich noch so weit gefaßten chemischen Reaktion in dem dritten Falle ausschließen, wenn nämlich die lineare Konzen-

---

[1]) Immunochemie, u. a. S. 131.

[2]) Freundlich, Capillarchemie, S. 286.

trationskurve gefunden werden sollte, die eine Erklärung nur mit Hilfe der physikalischen Lösungsgesetze des Henryschen Verteilungssatzes erlaubt.

Die Erfüllung der Vorbedingungen einer solchen Ermittlung der Abhängigkeit von der Konzentration stoßen nun für den Fall des Tetanustoxins auf nicht zu unterschätzende Schwierigkeiten. Denn es ist das chemisch so wenig bekannte Tetanustoxin nur mit Hilfe der biologischen Reaktion nachzuweisen, bei der bekanntlich eine exakte quantitative Bestimmung von sehr wenig beeinflußbaren oder berechenbaren Variablen, wie Individualität und reagierender Masse des Versuchstieres, Applikationsstelle und anderem abhängig ist. Immerhin lassen sich, wenn man sich einmal klar gemacht hat, daß auf die Exaktheit einer gewichtsanalytischen oder titrimetrischen Methode füglich verzichtet werden muß, Versuchsanordnungen finden, die für solche Zwecke ausreichen, bei denen der Versuchsfehler sich in einer anderen als der für die chemische Methodik erlaubten Größenordnung bewegen darf. Ein solcher Zweck ist nun tatsächlich der der vorliegenden Untersuchung, denn die charakteristische Kurve der chemischen Reaktion unterscheidet sich von der paraboloiden der Adsorption und von der linearen des Henryschen Verteilungssatzes so deutlich, daß dieser Unterschied auch bei einer in der Methodik liegenden Ungenauigkeit der Bestimmungen nicht so leicht verwischt werden kann.

Die Versuchsanordnung wurde in folgender Weise gewählt: es wurde innerhalb jeder Versuchsreihe gegen gleiche Mengen bindender Substanz die Konzentration der wässerigen Tetanustoxinlösung, bei gleichbleibendem Volumen des Lösungsmittels (physiologischer Kochsalzlösung), variiert. Die beiden Reagenzien wurden so lange gegeneinander geschüttelt, bis das Reaktionsgleichgewicht praktisch als erreicht betrachtet werden konnte. Hierauf wurde in der wieder abgetrennten wässerigen Lösung die noch übrig gebliebene Menge nicht gebundenen Tetanustoxins in folgender Weise ermittelt: es wurden von der wässerigen Lösung nach Ablauf der Bindungszeit fallende Verdünnungen hergestellt und durch Injektion von je 0,5 ccm einer jeden dieser Verdünnungen diejenige Verdünnung ermittelt, bei der die Versuchstiere gerade noch nach 3×24 Stunden sterben.

Versuche. Versuch 1.

Es wurden verwendet: je 1 g in Aceton entwässerte, bei 40° im Luftstrom getrocknete, pulverisierte Gesamtsubstanz aus normalem menschlichen Gehirn und 6 verschiedene, im Verhältnis von 1 : 2 ansteigende Konzentrationen wässeriger Tetanustoxinlösungen; das Volumen der wässerigen Lösung betrug 5,0 ccm; die Schüttelzeit betrug 1 Stunde. Die Trennung der wässerigen Lösung von der toxinbeladenen Hirnsubstanz geschah durch Zentrifugieren und nachfolgende Filtration; die Wirksamkeit des verwendeten Toxins war hier wie in allen folgenden Versuchen: 0,000015 g = 1 tödliche Einheitsdosis (1 + MD). Das Versuchsergebnis geht aus Tabelle I und Fig. 1 hervor.

Tabelle I.

Nr.	Ausgangskonzentration der Toxinlösung (+ MD)	A	Z	A/Z
1	22,5	18,9	3,6	5,25
2	45,0	36,0	9,0	4,00
3	90,0	76,4	13,6	5,62
4	180,0	100,0	80,0	1,25 (?)
5	360,0	287,5	72,5	3,97
6	720,0	572,0	148,0	3,86
			im Mittel	(4,00 bzw.) 4,55

Der Versuch 1 ergibt zunächst, daß, wenn diejenigen Tiere ins Auge gefaßt werden, die genau nach 3 × 24 Stunden dem Tetanus erlagen, sich auch bei den niederen Konzentrationen Toxinmengen in der Lösung wiederfinden lassen, die bei der echten chemischen Bindung unter Berücksichtigung der bei höheren Konzentrationen gebundenen Giftmengen nicht zu erwarten wären. Die zweckmäßigste Deutung des Versuchs läßt sich finden, wenn man nach Maßgabe aller gefundenen Werte Mittelwerte für die aufgenommene und die in der Lösung zurückgebliebene Menge ermittelt und deren Quotienten A/Z berechnet, wie dies in Tabelle I geschehen ist. Man findet dann, daß diese Zahl A/Z mit Ausnahme der Konzentration 4 eine unter Berück-

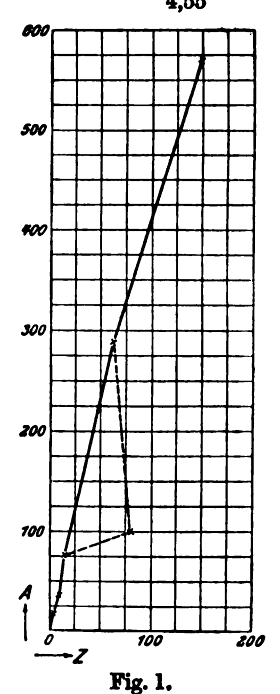


Fig. 1.

sichtigung der Versuchsmethodik hinreichend genaue Konstante darstellt, die das Vorliegen einer Verteilung nach dem Henrysatze wahrscheinlich macht. (Vgl. Kurve in Fig. 1.) Allerdings zeigt sich mit steigender Konzentration eine, wenn auch unbedeutende, Abnahme des Quotienten A/Z, indessen besitzt der Richtungsfaktor der linear verlaufenden $\frac{\lg A}{\lg Z}$-Kurve ziemlich genau den Wert 1, der für die Verteilung zu fordern ist, und der keineswegs als passender Exponentialfaktor für eine Adsorption zu verwenden ist.

Versuch 2.

Versuchsanordnung: Je 1 g bei 40° getrocknete, graue Gehirnsubstanz; Volumen der wässerigen Lösung 15 ccm; Schütteldauer 1/4 Stunde; je 2 Mäuse injiziert.

Tabelle II.

Nr.	Anfangskonzentr. des Toxins (+ MD)	Todestag	A	Z	A/Z
1a	480	4,5—5	< 450	> 30	< 15
1b	480	9,5	> 420	< 60	> 7
1c	480	> 9,5	> 360	< 120	> 3
2a	120	4,5—7	ca. 112,5	ca. 7,5	ca. 15
2b	120	4,5	< 105	> 15	< 7(?)
2c	120	5,5—9,5	> 90	< 30	> 3
3	60	4,5—9,5	> 45	< 15	> 3
4	30	8,5—überlebt	> 22,5	< 7,5	> 3

Versuch 3.

Je 1 g frische, graue Gehirnsubstanz; Volumen der wässerigen Lösung 10 ccm; Schütteldauer 1/2 Stunde; je 2 Mäuse injiziert.

Tabelle III.

Nr.	Anfangskonzentr. des Toxins (+ MD)	Todestag bzw. Erkrankungsgrad	A	Z	A/Z
1a	80	l. T. überlebt	> 70	< 10	> 7
1b	80	Sp. T. „	> 60	< 20	> 3
2a	160	M. T. „	> 155	< 5	> 31
2b	160	M. T. + i. c.	—	—	—
2c	160	l. T. „	> 140	< 20	> 7
3a	320	st. T. „	> 310	< 10	> 31
3b	320	mst. T. „	> 300	< 20	> 15
3c	320	m. T. „	> 300	< 20	> 15
3d	320	l. T. „	> 280	< 40	> 7

Die Versuche 2 und 3 sind deswegen nicht als besonders gelungen zu betrachten, weil in ihnen zu geringe Toxindosen

angewendet wurden, so daß die kritische Dosis, die innerhalb 3×24 Stunden zum Tode führen muß, niemals zur Injektion gekommen ist. Doch tritt auch bei ihnen deutlich zutage, daß an keiner Stelle der Konzentrationsreihe eine vollkommene Neutralisierung des Giftes erfolgt ist, und auch aus ihnen läßt sich ein Quotient A/Z berechnen, der mit größerer Wahrscheinlichkeit als eine Konstante betrachtet werden kann.

Versuch 4.

Je 1 g frische graue Substanz; Volumen der wässerigen Lösung 10 ccm; Schütteldauer 1 Stunde; je 2 Mäuse injiziert.

Tabelle IV.

Nr.	Anfangskonz. des Toxins (+ MD)	Tod nach Stunden	A	Z	A/Z
1a	1000	56/72	< 980	> 20	< 49
1b	1000	70/72	ca. 960	ca. 40	ca. 24
1c	1000	10 × 24	> 960	< 40	> 24
2a	2000	36/56	< 1960	> 40	< 49
2b	2000	42/76	< 1960	> 40	< 49
2c	2000	72/80	ca. 1920	ca. 80	ca. 24
2d	2000	80/8 × 25	> 1840	< 160	> 11,5
3a	4000	40/56	< 3920	> 80	< 49
3b	4000	58/66	< 3880	> 120	< 32,3
3c	4000	68/72	ca. 3840	ca. 160	ca. 24
3d	4000	6 × 24/überlebt	> 3840	< 160	> 24

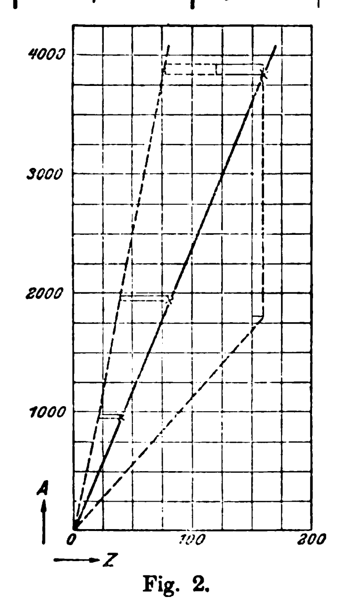


Fig. 2.

Versuch 5.

Je 3 g frische weiße Gehirnsubstanz; Volumen der wässerigen Lösung 10 ccm; Schütteldauer 1 Stunde; je 2 Mäuse injiziert.

Tabelle V.

Nr.	Anfangskonz. des Toxins (+ MD)	Tod nach Stunden	*A*	*Z*	*A/Z*
1a	100	139	80—90	10—20	4—9
1b	100	60 i. c.	—	—	—
1c	100	9 × 24/überlebt	>60	< 40	> 1,5
2a	200	79/103	>180, <190	> 10, < 20	> 9, < 19
2b	200	i. c./103	>160, <180	> 20, < 40	> 4, < 9
2c	200	127/139	>120, <160	> 40, < 80	> 1,5, <4
2d	200	überlebt	>160	< 40	> 4
3a	400	54/79	<380	> 20	< 19
3b	400	60/60	<360	> 40	< 9
3c	400	i. c./127	>320	< 80	> 4
3d	400	151/überlebt	>320	< 80	> 4
3e	400	überlebt	>320	< 80	> 4

Versuch 6.

Je 0,1 g Rohphrenosin; Volumen der wässerigen Lösung 20 ccm; Schütteldauer 8 Stunden; je 2 Mäuse injiziert.

Tabelle VI.

Nr.	Anfangskonz. des Toxins (+ MD)	Tod nach Stunden	*A*	*Z*	*A/Z*
1a	20000	32/45	< 19920	> 80	
1b	20000	32/ < 72	< 19840	> 160	
1c	20000	32/32	< 19680	> 320	
1d	20000	32/32	< 19360	> 640	
1e	20000	45/ < 72	< 19360	> 640	
1f	20000	< 72	< 17440	> 2560	< 6,8
1g	20000	> 5 × 24	> 14880	< 5120	> 2,9
2a	10000	32/32	< 9920	> 80	
2b	10000	32/ < 72	< 9920	> 80	
2c	10000	32/45	< 9680	> 320	
2d	10000	58/58	< 8720	> 1280	< 6,8
2e	10000	58/ > 5 × 24	> 7440	< 2560	> 2,9
3a	5000	32/32	< 4920	> 80	
3b	5000	32/32	< 4840	> 160	
3c	5000	45/45	< 4680	> 320	
3d	5000	58/67	< 4360	> 640	< 6,8
3e	5000	58/ > 5 × 24	> 3720	< 1280	> 2,9

Versuch 6a.

0,05 g Rohphrenosin; Volumen der wässerigen Lösung 1,5 ccm; darin 8000 + MD; Schütteldauer 8 Stunden, je 2 Mäuse injiziert.

Tabelle VIa.

Nr.	Anfangskonz. des Toxins (+ MD)	Tod nach Stunden	A	Z	A/Z
1a	8000	42/42	<7800	>200	$<39,0$
1b	8000	42/48	<7800	>300	$<25,7$
1c	8000	54/76	<7700	>300	$<25,7$
1d	8000	62/88	>7600	<400	$>19,0$
1e	8000	$>4\times 24$	>7600	<400	$>19,0$

Der Versuch 5 spricht zwar in demselben Sinne wie die vorausgegangenen Versuche, doch trägt er den gleichen Mangel der unzureichenden Dosis. Sehr deutlich zeigen aber die Versuche 4, 6 und 6a die Konstanz des Quotienten A/Z ohne Rücksicht auf die Variierung der Konzentration, so daß sie in sehr ausgesprochenem Maße das Zugrundeliegen des Verteilungssatzes wahrscheinlich machen.

Der Versuch 6a soll die Konstanz des Quotienten A/Z bei noch höherer Konzentration dartun; leider mußten zu diesem Zwecke, da das verfügbare Toxin zu Ende ging, die Volumina entsprechend verringert werden; man muß sich also die in Versuch 6a erhaltenen A- und Z-Werte auf die Volumina des Versuchs 6 umrechnen und erhält dann die A-Werte: >39500 bzw. <42438 und die Z-Werte >10922 bzw. <13860, bei einer Gesamtkonzentration von 53360. Verwertet man diese umgerechneten Werte, so erhält man für die Versuche 6 und 6a nebenstehendes Diagramm.

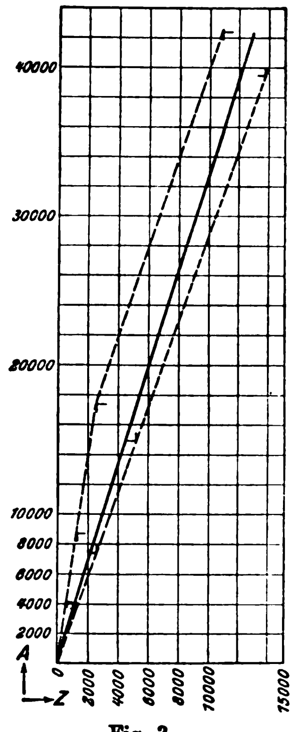


Fig. 3.

Rechnet man sich demnach die in den Versuchen gefundenen Konstanten auf die Volumeinheiten (1 g

bindender Substanz; 1 ccm H_2O) um, so findet man folgende Verteilungsfaktoren für die einzelnen zur Verwendung gekommenen Hirnteile:

1. Getrocknete Gesamtgehirnsubstanz (aus Versuch 1): 20, bzw. 22,75.
2. Trockene graue Substanz (aus Versuch 2): 105 bis 225.
3. Frische graue Substanz (aus Versuch 3): ca. 310.
   ,, ,, ,, (aus Versuch 4): > 240, (< 320).
4. Frische weiße Substanz (aus Versuch 5): 13 bis 30.
5. Rohphrenosin (aus Versuch 6): 580 bis 1360.
   ,, (aus Versuch 6a): 570 bis 770.

Der Versuchsmethodik entsprechend sind natürlich diese Teilungskoeffizienten nur als äußerst approximative Werte zu betrachten, doch findet sich innerhalb einer solchen Einschränkung eine gute Übereinstimmung, z. B. zwischen den Werten aus Versuch 3 und denen aus Versuch 4 für frische graue Substanz, andererseits auch zwischen den Werten für frische weiße und denen für frische graue Substanz, wobei sich das in der vorigen Arbeit angebene Verhältnis W.S.:R.S. = 1:12 einigermaßen wiederfinden läßt. Bezüglich der für die getrockneten Gehirnsubstanzen auf diese Weise berechneten Teilungskoeffizienten wäre auf die Unsicherheit der Ermittlungen über den Einfluß des Trocknens hinzuweisen, der sich auch aus der früheren Mitteilung ergibt. Der Teilungskoeffizient für Rohphrenosin ist im Vergleich zu den Ermittlungen der vorigen Untersuchung über das Bindungsvermögen der Cerebroside auffallend niedrig, doch läßt sich dies mit der Dehnbarkeit des Begriffes Rohphrenosin, d. h. also aus der Unreinheit des in Versuch 6 und 6a verwendeten Präparates, vor allem aber auch mit der Verschiedenheit des Volumens der wässerigen Lösung erklären.

Was die Versuche der vorigen Arbeit anbelangt, so wäre es nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung leicht möglich, die dort in den Kolumnen VI bzw. VII jeweils angegebenen Zahlen zu einer Berechnung des Teilungskoeffizienten für sämtliche damals untersuchten Substanzen zu verwenden; doch wurde leider seinerzeit, da ein derartiges Ergebnis noch nicht zu erwarten war, nicht genügender Wert auf die zu diesem Zwecke fehlende Festlegung der verwendeten Volumina

wasserigen Lösungsmittels gelegt. Andererseits ließen sich nunmehr die mehrfach aufgetretenen Inkongruenzen zwischen verschiedenen Versuchen mit der gleichen Substanz in einfacher Weise aus dem in jedem dieser Versuche wechselnden Volumen wässeriger Lösung erklären; denn von dieser jetzt leider nicht mehr zu korrigierenden Variation des Volumens der Lösungsmittel hängt offenbar der in den Kolumnen VI bzw. VII der ersten Mitteilung angegebene Faktor ab, der nichts anderes als das Produkt aus dem wahren Teilungskoeffizienten mit dem Volumen des wässerigen Lösungsmittels darstellt. Für manche der dort betrachteten Substanzen, so vor allem für die besonders hohe Bindung durch ölsaures Natrium, dessen Bedeutung für capillare Vorgänge besonders von Czapek[1]) gezeigt worden ist, müssen wohl auch noch andere Möglichkeiten als die Verteilung offen gelassen werden, wie denn überhaupt bei dieser ganzen Erörterung keineswegs übersehen wird, daß man gegen die Gültigkeit des Henryschen Satzes für die Tetanustoxinbindung Einwände aus der nicht unbeträchtlichen Fehlerbreite der Methodik der vorliegenden Versuche erheben kann. Es geht diese Fehlerbreite am deutlichsten aus den beiden Diagrammen hervor, bei denen eben zur Demonstrierung des Grades der Fehlerbreite die Maximal- und Minimalwerte mit aufgezeichnet sind. Indessen ist gerade diese Darstellung der oberen und unteren Fehlergrenze besonders geeignet, zu zeigen, daß auch innerhalb der weitesten Möglichkeitsbreite, die die vorliegenden Versuche noch zulassen, nirgends Platz für die Unterbringung der Kurve einer echten chemischen Reaktion vorhanden ist, und es kann diese Ermittlung wohl als durch diese Versuche hinreichend sichergestelltes Ergebnis betrachtet werden. Etwas anders verhält es sich immerhin mit der Frage, ob Adsorptionskurven innerhalb der Möglichkeitsbreite der Diagramme untergebracht werden können. Es ist zugunsten dieses Einwandes sogar noch einiges Weitere anzuführen: Nach noch nicht abgeschlossenen, an anderer Stelle mitzuteilenden Untersuchungen scheint — bei Versuchen in vitro wenigstens — die Mayer-Overtonsche Theorie von der Lösungsfunktion als vornehmlichster Eigenschaft der Lipoide allerlei Gebietsabtretungen

[1]) Czapek, Eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung. Jena 1911.

an eine die Adsorption mehr betonende Auffassung machen zu müssen, und zum mindesten findet sich in Konzentrationskurven zuweilen eine Summation beider Erscheinungen, die sich unter Umständen in dem Auftreten besonders flacher Adsorptionskurven zu erkennen gibt. Wenn es also auch nicht besonders leicht erscheint, reine Adsorptionskurven innerhalb der beiden Grenzen der Diagramme unterzubringen, so ist andererseits doch die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß der hier ermittelte Reaktionsverlauf eine Adsorptionskurve der letzterwähnten Art darstellt; auch müßte man immerhin daran denken, daß man es, da ja bei der hohen Toxizität des reinen Toxins wohl stets nur äußerst geringe Konzentrationen des Toxins selbst vorlagen, mit dem steilen Anfangsteil einer bei noch höheren Konzentrationen flacher werdenden Adsorptionskurve zu tun hat, wogegen allerdings die Größe des Exponentialfaktors der Kurven ins Feld zu führen ist; eine ganz endgültige Widerlegung ist erst bei Verwendung von Konzentrationen des Toxins möglich, die bisher wegen des spärlichen Materials nicht hergestellt werden konnten.

Nach allen diesen Auseinandersetzungen erscheint es immerhin erlaubt, die Tetanustoxinbindung als eine Verteilung gemäß dem Henryschen Satze, also als eine Lipoidfunktion im Sinne der Mayer-Overtonschen Theorie, aufzufassen.

Es wurde schließlich noch eine andere Versuchsanordnung gewählt, um den Ablauf der Tetanusbindungsreaktion zu studieren. Handelt es sich nämlich bei der Bindung des Tetanustoxins um eine chemische Reaktion, ohne daß rein physikalische Vorgänge der Aufnahme in das Gehirn bzw. dessen lipoide Substanzen zugrunde liegen, so ist nicht zu erwarten, daß das Toxin durch eine aus diesen rein chemisch wirkenden Substanzen bestehende Membran hindurchdiffundieren kann. Andererseits muß ein Versuch, durch den gezeigt werden kann, daß das Tetanustoxin Membranen aus solchen „bindenden" Substanzen passieren kann, als weitgehende Analogie mit den Overtonschen Versuchen betrachtet und in erster Reihe als Beweis für das Vorliegen einer Verteilung zwischen lipoidem und wässerigem Lösungsmittel angesehen werden.

Leider bestehen nun aber wiederum Schwierigkeiten für die einwandfreie Ausführung solcher Membranversuche. Selbst

wenn es gelingt, eine aus Lipoiden bestehende Membran ohne Kontinuitätsstörung herzustellen, so ermangelt eine solche Membran beim Einbringen in Wasser der notwendigen Festigkeit, da das Lipoid mit Wasser quillt und sich in gequollenem oder kolloiddispersem Zustand in dem Wasser verteilt. Versuchsanordnungen, bei denen die Membran durch eine stützende Hilfsmembran vor dieser Dispersionsgefahr geschützt wird — wie ich sie zu anderen Zwecken seit langem zu treffen pflege —, waren zu dem Ende der vorliegenden Ermittlungen nicht verwendbar, weil diese Stützmembranen, wenn sie nicht aus einem auch für das kolloid gelöste Toxin impermeablen Stoffe (Pergament) bestehen, auch das Lipoid durch ihre Lücken hervorquellen lassen. Es gelang dementsprechend nicht, Lipoidmembranen durch Einschaltung zwischen Seidenmembranen haltbar zu machen; es ließen diese Membranen zwar das Tetanustoxin, indessen nach längerem Quellen auch das zur Kontrolle aufgebrachte Chlornatrium passieren. Auch eine andere Versuchsanordnung, die, wenn einwandfrei, eine besonders weitgehende Deutung gestatten würde, möchte ich wegen des unsicheren Ausfalls der Kontrollen nicht als besonders beweisend betrachten. Es wurde nämlich eine Pergamentmembran, die, allein verwendet, für das in Wasser gelöste Tetanustoxin impermeabel ist, aus einer Chloroformlösung der Gesamtlipoide des Gehirns mit Lipoid getränkt und die so gewonnene, nach Abdunsten des Chloroforms in ihren für das in Wasser gelöste Toxin undurchgängigen Maschen die trocknen Lipoide enthaltende Membran zu dem Diffusionsversuch verwendet. Die vorher toxinfreie Außenlösung entfaltete nach 24stündiger Dauer des Versuchs bei Injektion von 0,5 ccm bereits eine tödliche tetanische Wirkung auf Mäuse. Nach der Kontrollaufbringung von konzentrierter Chlornatriumlösung zeigte sich nach 2mal 24 Stunden in der Außenflüssigkeit mit Silbernitrat eine nur äußerst mäßige und sehr voluminöse Fällung, die demnach wahrscheinlich nur eine Silberfällung des zum Teil zur Dispersion gekommenen Lipoids darstellt, indessen, da eine weitere Prüfung nicht vorgenommen wurde, das Versuchsergebnis nicht ganz sicher gestaltet.

Vor Einwänden sicher erscheint dagegen folgender Versuch: Auf eine in einem Reagensglas erstarrte, konzentrierte Tetanustoxinlösung in 1%iger Gelatine wurde eine etwa 0,5 cm dicke

Schicht konzentrierter Chloroformlösung der Gesamtlipoide des Gehirns, hierüber physiologische Kochsalzlösung geschichtet; der ganze Versuch wurde unter möglichst aseptischen Kautelen vorgenommen. 0,5 ccm der Kochsalzlösung, nach 8 Tagen entnommen, entfalteten eine ausgesprochene, wenn auch nicht tödliche Tetanuswirkung auf die Maus. Die Chloroformlipoidmembran war nach Ablauf dieser Zeit, mit Ausnahme der der Kochsalzlösung zugekehrten obersten 2 mm, die eine rahmige Emulsion mit dem Wasser gebildet hatten, vollkommen unversehrt. Es muß also das Tetanustoxin, da es in dem Chloroformanteil des Diaphragmas unlöslich ist, das Lipoid durchwandert haben, was gemäß den Overtonschen Membranversuchen nur für lipoidlösliche und nach dem Verteilungssatze wieder abzugebende Substanzen möglich ist. Es ist also auch für diesen Versuch die Erklärung durch Verteilung die nächstliegendste, wenn es auch nach demnächst zu veröffentlichenden Versuchen den Anschein hat, als ob ein Teil der von Overton gerade in solchem Zusammenhang angeführten Substanzen nicht der Verteilung, sondern der Adsorption folgend diese Erscheinungen der Lipolyse und Lipoidpermeationsfähigkeit zeigen.

Schlußbetrachtung.

An die in diesen Versuchen wahrscheinlich gemachte Tatsache, daß das Tetanustoxin durch das Gehirn in vitro nach dem Henry-Satze aufgenommen wird, läßt sich eine Anzahl von Betrachtungen anschließen.

Es zeigt sich zunächst, daß das Tetanustoxin — ein nach den bisherigen Begriffen echtes Toxin, da es zur Anregung der Bildung von Antikörpern befähigt ist, also antigene Eigenschaften besitzt — von den bisher für solche Gifte geltenden Reaktionsgesetzen abweicht. Daß es bis heute als derjenige Stoff galt, der den besten Beweis für eben die Gesetze liefern sollte, von denen es sich nunmehr gerade als abweichend erweist, braucht noch nicht zu einer Verallgemeinerung in dem der bestehenden Theorie entgegengesetzten Sinne zu zwingen. Doch zeigt das Beispiel, daß man sich unter dem vom Standpunkte der biologischen Begriffsbildung aus wertvollen „distributiven Moment“ sehr wohl auch etwas anderes als die bei der Absättigung chemischer Affinitäten in Tätigkeit tretenden Energien

vorstellen kann, daß man nämlich unter Umständen diesen Begriff des distributiven Moments in einem viel wörtlicheren Sinne, dem der bei der physikalischen Verteilung tätigen Energien, anwenden kann. Diese Auffassung würde, da es ja unter Umständen mehr oder weniger spezifische Lösungsmittel gibt, die Vorstellbarkeit von Erscheinungen, die als „spezifische" imponieren können, nicht weniger in sich schließen als die spezifische chemische Affinitäten voraussetzende Seitenkettentheorie. Selbstverständlich ist es, wie erwähnt, keineswegs erlaubt, von einem einzelnen Fall aus in solchem Sinne zu verallgemeinern; doch regt dieser immerhin die Frage an, ob nicht die Erscheinungen, für die der Begriff des distributiven Moments geprägt worden ist, auf verschiedenartige Ursachen zurückzuführen sind, als welche eben außer rein chemischen Energien auch Oberflächenenergien und Lösungsenergien in den Bereich der Betrachtungen zu ziehen wären; denn wie für die letzteren das Beispiel des Tetanustoxins zu gelten scheint, so lassen manche mit ähnlicher Fragestellung für andere Immunreaktionen angestellte Untersuchungen an das Vorliegen von Adsorptionsvorgängen denken. Für die Verteilung wiederum sind auch außer den von Mayer und Overton studierten Vorgängen Beispiele, bei denen beachtenswerterweise stets Lipoide im Spiele sind, zu finden, so gerade aus der allerjüngsten Zeit die von Warburg[1]) angestellten Untersuchungen über die Sauerstoffaufnahme durch die Zelle.

Von dieser Stelle der Betrachtung aus kommt man zu dem zweiten Gesichtspunkte, unter dem die hier beschriebene Erscheinung von Interesse erscheint, nämlich zu der Betrachtung der Lipoide in ihrer Funktion als heterogene Lösungsmittel. Es scheint zwar auf den ersten Blick die Tetanustoxin-„Bindung" nur ein Belegbeispiel mehr für die Mayer-Overtonsche Theorie zu sein. Sie bildet indessen insofern einen besonderen Fall, als es sich hier um eine durch Lipoide aufgenommene Substanz handelt, deren Lösungsverwandtschaft zu organischen Lösungsmitteln bisher überhaupt nicht bekannt war. Es stellen also die Lipoide Lösungsmittel von ganz besonderer Art dar, wenn sie eine gegen alle erdenklichen Lösungsmittel so refraktäre Substanz zu lösen vermögen, und sogar,

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1910.

wie dies aus der Versuchstechnik der ersten Untersuchung hervorgeht, die scheinbare Lösung dieser Substanz durch sonst refraktäre Lösungsmittel zu bewirken vermögen. Eine besondere Beachtung verdient auch, daß es sich um feste Lösungsmittel handelt, die, in emulsoider Dispersion vorhanden, auch starke Adsorptionsfähigkeit erwarten lassen, so daß sich im voraus annehmen läßt, daß sich an ihnen alle Kombinationsmöglichkeiten zwischen Verteilung und Adsorption studieren lassen werden.

Unter dem Gesichtspunkt der vorliegenden Untersuchung gewinnt weiter auch die von Bang gegebene Definition der Lipoide neues Interesse. Denn wenn man sieht, wie sich hier eine ganze Anzahl von organischen Substanzen als Lösungsmittel von besonderer Eigenart erweisen, so kann man in der Tat zu der Anschauung gelangen, daß sich andererseits auch noch eine große Anzahl von „Lipoiden“ wird auffinden lassen, wenn man nur das geeignete organische Lösungsmittel für diesen Zweck ermitteln kann; denn es wäre ja nach dieser Definition auch das Tetanustoxin, das zu dem organischen Lösungsmittel „Lipoid“ eine bis zu 1000fach größere Lösungsaffinität als zu Wasser hat, als „Lipoid“, wenigstens in diesem weitesten Sinne des Wortes, zu betrachten. Und es lenkt diese Betrachtungsweise erneut das Augenmerk auf die besondere Befähigung der Lipoide als Lösungsmittel für Lipoide, auf die bereits Thudichum[1]) hingewiesen hat, mit der Fülle der hierbei sich ergebenden Phänomene, wie feste Lösung, Mischkrystalle u. a. m.

Auch für eine andere, mehr praktische Aufgabe ergeben sich aus der vorliegenden Untersuchung Fingerzeige, nämlich für die Versuche zur Isolierung und Konstitutionsermittlung des Tetanustoxins. Diese Aufgabe ist bisher, zu einem großen Teil zum mindesten, deswegen ihrer Lösung nicht näher gekommen, weil es eben an einem geeigneten Lösungsmittel zur Isolierung des Toxins von den anderen Substanzen, die es in seiner wässerigen Lösung noch begleiten, gefehlt hat. Wenn nun auch die gewöhnlichen Lipoide nicht den Eindruck von Lösungsmitteln machen, aus denen eine gelöste Substanz besonders rein wieder zu gewinnen ist, so kann man doch hoffen,

[1]) Gehirnchemie, Tübingen 1901.

in der Reihe derjenigen organischen Substanzen, die nach der früheren Mitteilung als Lösungsmittel für das Tetanustoxin in Betracht kommen, solche zu finden, die den für diesen Zweck zu stellenden Forderungen entsprechen. Ein solches Lösungsmittel, das sich hierbei vielleicht als zweckmäßig erweisen kann, oder wenigstens die weitere Versuchsrichtung angibt, ist dort bereits genannt, nämlich das Äthylbenzoat.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Freundlich bin ich für wertvolle Förderung und Beratung bei der Ausführung der Untersuchungen zu größtem Danke verpflichtet. Dem Entgegenkommen meines verehrten Chefs, Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Flechsig, verdanke ich die äußeren Arbeitsmöglichkeiten.

Zusammenfassung.

Aus der Betrachtung von Konzentrationskurven ergibt sich, daß für das Zustandekommen der Tetanusbindung durch Gehirnsubstanz eine chemische Reaktion von hoher und spezifischer Affinität nicht in Frage kommen kann, daß vielmehr diesem Vorgang eine Verteilung nach Maßgabe des Henryschen Satzes zugrunde zu liegen scheint.

Autorenverzeichnis.

